

RESORPTION UND IMMUNITÄTSLAGE NACH ORALER
APPLIKATION VON PFERDE-GAMMAGLOBULIN
AN KANINCHEN UND RATTEN

Josef Steininger

1977

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41555616_0027

Dissertationsdruck

Blasaditsch GmbH • 89 Augsburg 17 • Theodor-Heuß-Platz 3 • Telefon (0821) 51 85 63

Aus dem Institut für chirurgische Forschung und ex-
perimentelle Medizin

Vorstand: Prof. Dr. Dr. W. Brendel
an der Chirurgischen Klinik der Universität München
Direktor: Prof. Dr. G. Heberer

RESORPTION UND IMMUNITÄTSLAGE NACH ORALER APPLIKATION
VON PFERDE-GAMMAGLOBULIN AN KANINCHEN UND RATTEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Josef Steininger
aus
Augsburg

1976

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität München

Berichterstatter: Priv. Doz. Dr. Seifert

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. h.c. Brendel

Dekan: Prof. Dr. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Dezember 1977



Meiner Frau und meinem Kind



Das Entstehen der vorliegenden Arbeit verdanke ich in erster Linie Herrn Prof. Dr. Dr. W. BRENDDEL, der es mir ermöglichte, in dem von ihm geleiteten Institut für chirurgische Forschung und experimentelle Medizin die Untersuchungen durchzuführen. Ihm sei herzlich dafür gedankt.

Zu sehr großem Dank bin ich auch Herrn Privatdozent Dr. J. SEIFERT und Herrn Dr. J. RING verpflichtet, die mich in der Konzeption, Durchführung und Auswertung der Untersuchungen stets mit größter Hilfsbereitschaft unterstützt haben.

Ein besonderer Dank gilt Frl. J. KRUMBACH, die mich nicht nur in die notwendigen labortechnischen Methoden eingeführt hat, sondern mir auch einen Großteil der technischen Arbeit abgenommen hat.

Frl. S. PFEFFER danke ich herzlich für die Anfertigung der Abbildungen.

Für die Erstellung und Auswertung der histologischen Präparate habe ich Herrn Privatdozent Dr. K. Pielsticker vom Pathologischen Institut der Universität München herzlich zu danken.

The following are the principal results of the investigation:

1. The results of the investigation are as follows:

2. The results of the investigation are as follows:

3. The results of the investigation are as follows:

4. The results of the investigation are as follows:

5. The results of the investigation are as follows:

6. The results of the investigation are as follows:

7. The results of the investigation are as follows:

8. The results of the investigation are as follows:

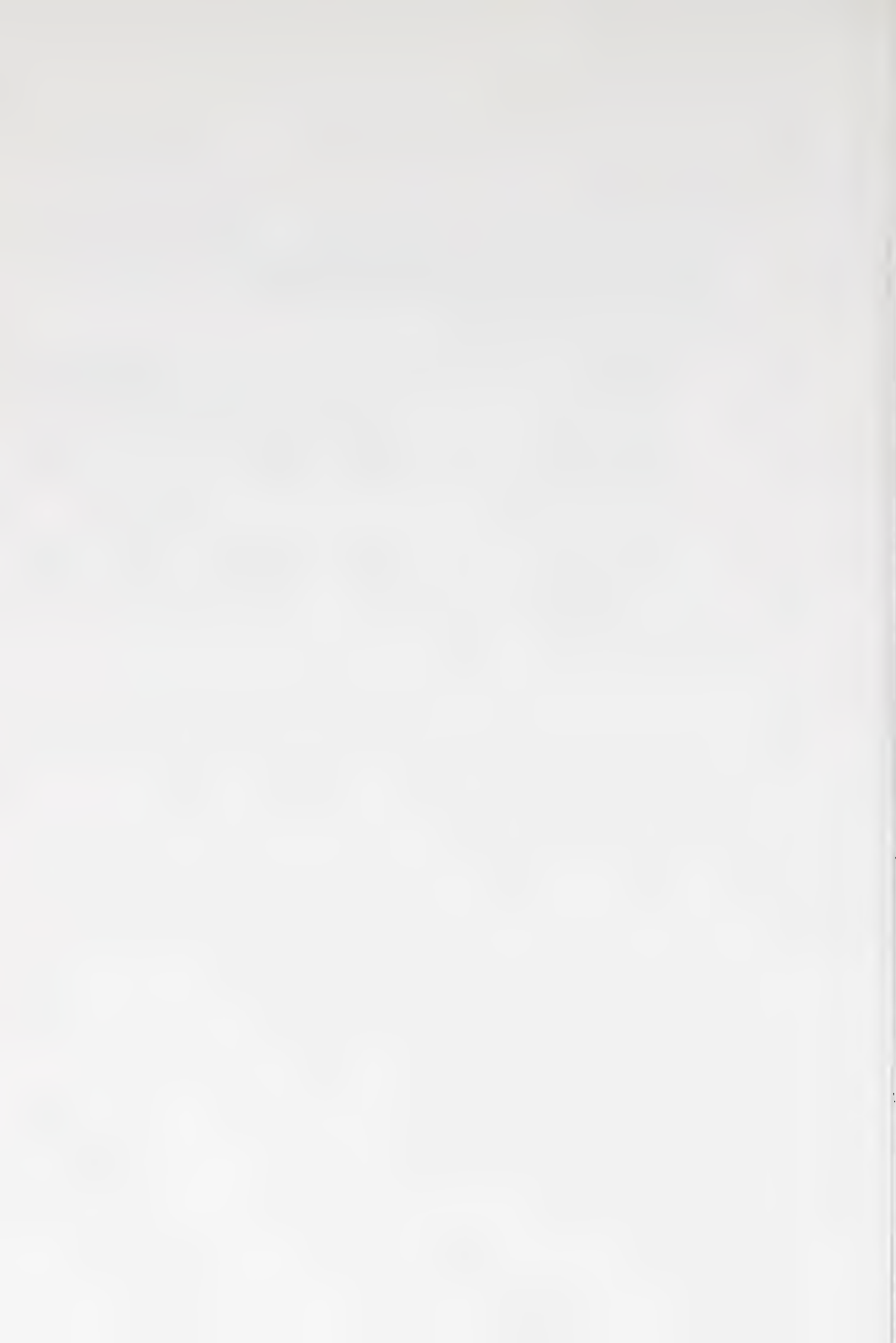
9. The results of the investigation are as follows:

10. The results of the investigation are as follows:

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden bereits
in folgenden Artikeln veröffentlicht:

1. SEIFERT, J., Influence of the immune response
 RING, J., on the absorption of protein
 STEININGER, J., and antigens from the gut.
 W. BRENDDEL: Nutr. Metabol. 20, 195 (1976)

2. SEIFERT, J., Oral antigen application.
 RING, J., Eur. Surg. Res. 8, 254 (1976)
 STEININGER, J., and
 W. BRENDDEL:



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	1
2. MATERIAL UND METHODEN	6
2. 1. Versuchstiere und Versuchsanordnung	6
2. 1. 1. Immunisierung der Kaninchen	6
2. 1. 2. Desensibilisierung der Kaninchen	8
2. 1. 3. Resorptionsmessung bei den Kaninchen	8
2. 1. 4. Toleranzinduktion bei den Ratten	9
2. 1. 5. Challenge der Ratten mit Pferde-IgG und Hammelerythrozyten	11
2. 1. 6. Resorptionsmessung bei den Ratten	11
2. 2. Methoden	12
2. 2. 1. Immunologische Testmethoden in vivo	12
2. 2. 2. Immunologische Testmethoden in vitro	12
2. 2. 2. 1. Elektrophorese	12
2. 2. 2. 2. Agargel-Doppeldiffusionstest nach OUCHTERLONY	13
2. 2. 2. 3. Aktive Hämagglutination	14
2. 2. 2. 4. Passive Hämagglutination	14
2. 2. 3. Resorptionsmessung	15
2. 2. 3. 1. Markierung von Pferde-IgG mit ¹³¹ Jod	15
2. 2. 3. 2. Trennung der markierten Proteine von dem ungebundenen Indikator	16
2. 2. 3. 3. Radiochromatographie	17

	Seite
2. 2. 4. Verwendete Substanzen	18
2. 2. 5. Histologische Untersuchung	18
2. 2. 6. Statistische Auswertung	19
3. ERGEBNISSE	20
3. 1. Immunologische Veränderungen nach parenteraler Applikation von Pferde- IgG bei Kaninchen und Ratten	20
3. 1. 1. Antikörperbildung	20
3. 1. 1. 1. Bildung hämagglutinierender Antikörper	20
3. 1. 1. 2. Bildung präzipitierender Anti- körper	22
3. 1. 2. Veränderung der Serumproteinzu- sammensetzung	24
3. 1. 3. Sensibilisierungsnachweis bei den Kaninchen durch den Hauttest	26
3. 2. Immunologische Veränderungen nach enteraler Applikation von Pferde- IgG bei Kaninchen und Ratten	28
3. 2. 1. Induktion einer immunologischen Reaktionslosigkeit gegen Pferde-IgG bei Ratten durch enterale Appli- kation von Pferde-IgG	28
3. 2. 1. 1. Bildung hämagglutinierender Antikörper	28
3. 2. 1. 2. Veränderung der Serumproteinzusam- mensetzung bei Ratten nach oraler Applikation von Pferde-IgG	30

	Seite
3. 2. 2. Immunologische Veränderungen bei Pferde-IgG-sensibilisierten Kanin- chen nach oraler Antigenapplikation	30
3. 2. 2. 1. Erniedrigung des Antikörpertiters	30
3. 2. 2. 2. Veränderte Reaktion im Hauttest	34
3. 2. 2. 3. Beeinflussung der Serumprotein- zusammensetzung	34
3. 3. Histologische Veränderungen bei immunisierten und oral behandelten Kaninchen	37
3. 4. Einfluß der spezifischen Immunitäts- lage auf das Resorptionsverhalten	38
3. 4. 1. Resorptionsverhalten sensibilisier- ter Ratten und Kaninchen im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren	38
3. 4. 1. 1. Serumradioaktivität nach oraler Applikation von ¹³¹ Jod-markier- tem Pferde-IgG bei immunisierten und unbehandelten Kaninchen	38
3. 4. 1. 2. Organverteilung der Radioaktivi- tät nach oraler Applikation von ¹³¹ Jod-markiertem Pferde-IgG bei immunisierten und unbehandelten Kaninchen und Ratten	41
3. 4. 1. 3. Resorptionsrate von markiertem Fremdprotein bei immunisierten und unbehandelten Kaninchen	41
3. 4. 1. 4. Anteil der an großmolekulare Be- standteil gebundenen Radioaktivi- tät	46

	Seite
3. 4. 2. Resorptionsverhalten von Ratten mit ausgeprägter, abgeschwächter und fehlender Immunantwort nach Antigenbelastung	49
3. 4. 2. 1. Organverteilung der Radioaktivität nach oraler Applikation von ¹³¹ I-Jod-markiertem Fremdprotein bei Ratten mit fehlender Immunantwort	50
3. 4. 2. 2. Resorptionsrate von markiertem Fremdprotein	50
3. 4. 2. 3. Anteil der an großmolekulare Bestandteile gebundenen Radioaktivität	52
4. DISKUSSION	53
4. 1. Zusammenhang zwischen Resorption und Immunitätslage	53
4. 2. Modell zur Erklärung der Resorption großmolekularen Fremdproteins	59
4. 3. Rolle des sekretorischen IgA für die Resorption	63
4. 4. Orale Toleranzinduktion	66
4. 5. Zur Frage der Desensibilisierung	72
5. ZUSAMMENFASSUNG	76
6. LITERATURVERZEICHNIS	79

1. EINLEITUNG

Die Frage der Resorption von Protein aus dem Intestinaltrakt erwachsener Individuen scheint hinreichend beantwortet zu sein, wenn man sich an die Aussagen gängiger Lehrbücher der Physiologie hält (56, 134). Danach wird natives Eiweiß beim erwachsenen Menschen nicht als solches resorbiert. Lediglich das neugeborene Kind macht eine Ausnahme. In den ersten drei Tagen nach der Geburt (56) wird das Eiweiß des Kolostrums, ohne hydrolysiert und enzymatisch degradiert zu werden, durch den Darm aufgenommen.

Die Tatsache, daß Protein nur von Neugeborenen - seien es Menschen oder Tiere - unverändert resorbiert wird, schien unbestritten, einerseits weil diesbezügliche Untersuchungen die Resorption intakten Proteins bei Neugeborenen nachgewiesen hatten (17, 18, 55, 62, 65), andererseits weil es bereits seit den Forschungen von KUTSCHER und SEEMAN (75) um die Jahrhundertwende feststand, daß beim erwachsenen Menschen oder Tier nach einer proteinhaltigen Nahrung die Konzentration freier Aminosäuren im Blut ansteigt, was ja nichts anderes bedeutet, als daß das zugeführte Protein im Laufe der Verdauung in seine Aminosäure-Bestandteile abgebaut wird.

Nimmt man die Befunde von LOEWI (82) hinzu, der zeigte, daß ein Tier bei der Zufuhr von hydrolysiertem Protein,

also ohne jegliches intakte Protein, am Leben erhalten werden kann, so wird es verständlich, daß sich das Interesse bezüglich der Proteinresorption beim erwachsenen Individuum mehr darauf konzentrierte, wie die proteolytische und hydrolytische Spaltung vor sich geht und mit welchen Mechanismen die Spaltprodukte, letztlich die Aminosäuren, resorbiert werden.

Um das Sistieren der Aufnahme von intaktem Protein nach einer kurzen Neugeborenenperiode zu erklären, wurden verschiedene Theorien entwickelt. Es wurde diskutiert, ob nicht ein Faktor im Kolostrum die Resorption beende (79, 106). Andere waren der Meinung, daß die kurze Zeit nach der Geburt einsetzende Antikörperproduktion des jungen Individuums die Resorption intakten Proteins verhindert (61, 62, 126). Wieder andere sehen in der noch mangelhaften Enzymausstattung des Neugeborenen den Grund für die Resorption von intaktem Protein kurze Zeit nach der Geburt. In dem Maße, wie die Produktion proteolytischer Enzyme einsetzt, geht die Aufnahme intakten Proteins zurück (61, 66). In die gleiche Richtung weisen die Ergebnisse von WALKER et al. (127), die zeigen, daß bei Tieren nach Ligatur des Ductus pancreaticus weniger Fremdprotein im Darm abgebaut wird und damit die Wahrscheinlichkeit ansteigt, daß es in der Zirkulation erscheint.

Neben all diesen Untersuchungen gibt es allerdings auch eine Reihe von Befunden, die es wahrscheinlich

machen, daß intakte Proteine auch vom ausgereiften Individuum resorbiert werden können. Schon 1869 konnten VOIT und Mitarbeiter (120) feststellen, daß oral verabreichtes Protein im Blut wiedergefunden werden kann. Um 1890 wies HAIDENHAIN (60) nach, daß bei Hunden, deren Darm mit homologem Protein gefüllt wurde, die Konzentration dieses Proteins im Serum anstieg. 1927 gelang WALZER (129) der Nachweis, daß vom Menschen oral zugeführtes Protein unter Beibehaltung seiner biologischen Aktivität resorbiert werden kann. Bei Versuchspersonen, die rohes Eiweiß zu essen bekommen hatten, konnte er mittels subkutan injizierten Antiserums bereits wenige Minuten nach der Eiweißzufuhr an der Injektionsstelle eine Antigen-Antikörper-Reaktion vom Soforttyp beobachten.

Einen neuen Anstoß bekam die Untersuchung der Proteinresorption von der Allergieforschung her. Allergisierung durch Nahrungsmittelproteine setzt ja voraus, daß die zugeführten Proteine bei ihrem Kontakt mit immunkompetenten Zellen nach der Resorption zumindest insoweit unverändert sein müssen, daß die immunogene Struktur noch erhalten bleibt (1). Allgemein wird die geringe Allergisierungsquote dadurch erklärt, daß zugeführtes Protein im Darmlumen durch die entsprechenden Enzyme gespalten wird und somit die immunogenen Strukturen verlorengehen (15, 23, 35, 57, 66, 71, 83, 89).

Übereinstimmend damit konnten im Serum von Nahrungsmittelallergikern auch Immunogene nachgewiesen werden (6, 24, 54, 67, 84).

Nimmt man allerdings die Befunde anderer Untersucher hinzu, die oral zugeführtes Fremdprotein auch im Serum klinisch gesunder Personen entdeckt haben (5, 96), so erscheint es doch fraglich, ob eine Allergie gegen mit der Nahrung zugeführtes Protein allein mit dem Übertritt großmolekularen Fremdproteins in die Zirkulation und dem damit verbundenen Kontakt mit immunkompetenten Zellen erklärbar ist. McCaffery et al. (84) haben gezeigt, daß sich bei entsprechender Technik auch im Serum klinisch gesunder Personen Kuhmilchproteine und gegen diese gerichtete Antikörper feststellen lassen.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, die Frage zu untersuchen, ob zwischen spezifischer Immunität und der Resorption von Proteinen ein Zusammenhang besteht. Nach den Ergebnissen, die Seifert (100) mitgeteilt hat, kann angenommen werden, daß unter geeigneten Versuchsbedingungen und bei entsprechenden Untersuchungsmethoden ein bestimmter Prozentsatz eines oral zugeführten Fremdproteins in großmolekularer Form im Blut der Empfänger nachweisbar ist. Variiert aber die Menge des resorbierten und im Blut erscheinenden Fremdproteins je nach Immunitätslage des Organismus? Wie wirkt sich

weiterhin die orale Applikation eines Fremdproteins auf die spezifische Immunitätslage eines Organismus aus?

Die vorliegenden Untersuchungen an Kaninchen und Ratten sollen klären, ob und in welcher Weise

1. die Aufnahme großmolekularen Fremdproteins aus dem Darm von der Immunreaktion des Organismus gegen das Fremdprotein abhängig ist,
2. durch die orale Applikation von Fremdprotein eine bestehende Immunisierung rückgängig gemacht werden kann,
3. eine orale Toleranzinduktion möglich ist.

Als Fremdprotein wird Pferde-Immunglobulin G verwendet.

2. MATERIAL UND METHODEN

2. 1. Versuchstiere und Versuchsanordnung

Zu den Versuchen wurden weiße Neuseeland-Kaninchen mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von vier kg verwendet (aus der Züchtung der Fa. Riedel, München). Die Tiere wurden in Einzelkäfigen gehalten und bekamen Altromin-K-2023 (von Altromin GmbH, Lage) zum Fressen (Wasser ad libitum).

Bei den verwendeten Ratten handelte es sich um weiße männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem durchschnittlichen Körpergewicht von 250 g (aus der Züchtung der Fa. Bäumler, Wolfratshausen). Sie wurden in Gruppen zu fünf Tieren gehalten und bekamen Altromin-R-1324 (von Altromin GmbH, Lage) zum Fressen (Wasser ad libitum).

2. 1. 1. Immunisierung der Kaninchen

Zusammenfassend ist die Versuchsanordnung, nach der die Kaninchen behandelt wurden, in Abb. 1 dargestellt. Sieben Kaninchen wurden dreimal wöchentlich je 50,0 mg (1,0 ml) Immunglobulin G vom Pferd (Pferde-IgG) (Fa. Behringwerke, Marburg) zusammen mit 1,0 ml komplettem Freundschem Adjuvans (DIFCO Laboratories, Detroit, USA) tief in den Glutaealmuskel injiziert. Diese Behandlung wurde vier Wochen lang durchgeführt. Die fünf Tiere der Kontrollgruppe wurden unter gleichen äußeren Bedingungen gehalten, bekamen aber keine Pferde-IgG-Injektionen.

VERSUCHSANORDNUNG BEI DEN KANINCHEN

Desensibilisierung mit tägl. oraler Applikation
von Pferde-IgG in zweiwöchentlich ansteigenden
Dosen

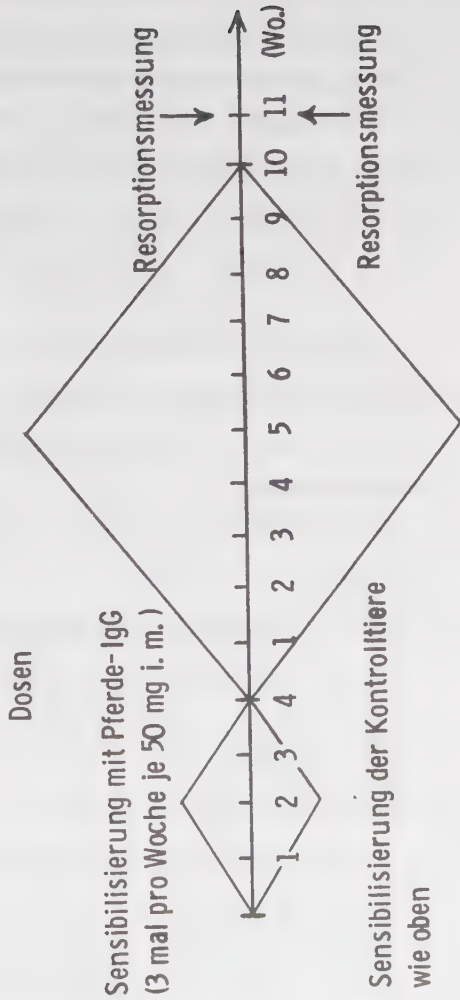


Abb. 1

2. 1. 2. Desensibilisierung der Kaninchen

Vier der nach dem oben beschriebenen Verfahren sensibilisierten Kaninchen bekamen täglich je 125,0 mg (2,5 ml) Pferde-IgG zusammen mit geraspelten Karotten nach jeweils 12-stündiger Nüchternheit (Wasser ad libitum) zum Fressen. Nach je zwei weiteren Wochen wurde die Dosis Pferde-IgG um 25,0 mg (0,5 ml) erhöht. Diese Fütterung wurde zehn Wochen lang durchgeführt.

Die restlichen drei Kaninchen bekamen unter gleichen Bedingungen (12-stündige Nüchternheit, Wasser ad libitum) geraspelte Karotten zum Fressen, um einen möglichen Adjuvanseffekt des Karotins ausschließen zu können (132). Die 12-stündige Nüchternheit wurde gewählt, um zu gewährleisten, daß die hungrigen Tiere das mit Karotten vermischte Pferde-IgG vollständig aufnahmen.

2. 1. 3. Resorptionsmessung bei den Kaninchen

Die vier desensibilisierten, die drei sensibilisierten Kaninchen und die fünf Kontrolltiere bekamen nach mehr als 12-stündiger Nüchternheit je 450,0 mg (9,0 ml) ¹³¹Jod-markiertes Pferde-IgG vermischt mit rohen geraspelten Karotten zum Fressen.

Unmittelbar vor der Fütterung, eine, vier und sechs Stunden danach wurde den Kaninchen zur Bestimmung der im Blut vorhandenen Radioaktivität Blut aus einer Ohrvene abgenommen. Sechs Stunden nach der Fütterung wurden die Tiere durch Entbluten getötet; Schilddrüse, Lunge, Leber, Milz, Nieren, Magen, Dünn- und Dickdarm

wurden entnommen und das Gewicht der einzelnen Organe sowie des Magen-, Dünndarm- und Dickdarminhaltes bestimmt. Ein exakt abgewogener Teil derselben kam in Meßröhrchen zur Bestimmung der Radioaktivität. So ließ sich die Aufnahme des radioaktiv markierten Proteins, bzw. die Aufnahme der Spaltprodukte in die einzelnen Organe und die Gesamtmenge des Pferdeproteins bestimmen, das aus dem Magen-Darm-Trakt entweder intakt oder in Bruchstücken resorbiert wurde.

2. 1. 4. Toleranzinduktion bei Ratten

In Abb. 2 ist schematisch dargestellt, welcher Behandlung die Ratten unterzogen wurden.

Die Tiere einer ersten Gruppe, bestehend aus zehn Sprague-Dawley-Ratten, bekamen täglich über die Dauer von zwei Wochen je 25,0 mg (0,5 ml) Pferde-IgG (Fa. Behringwerke, Marburg) in 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung intragastral verabreicht.

Dazu wurde den Tieren im Ätherrausch ein Polyäthylenschlauch vorsichtig bis in den Magen geschoben und dann das Kochsalz-Pferdeeiweiß-Gemisch appliziert. Den fünf Tieren der zweiten Gruppe wurden täglich zwei Wochen lang je 25,0 mg (0,5 ml) Pferde-IgG im Ätherrausch und unter sterilen Kautelen in die Peritonealhöhle injiziert.

Die fünf Ratten der Kontrollgruppe bekamen über den gleichen Zeitraum und unter den gleichen Bedingungen je 0,5 ml sterile physiologische Kochsalzlösung intra-

VERSUCHSANORDNUNG BEI DEN RATTEN

Challenge mit je 1 mg Pferde-IgG
+ kompl. Freund'schem Adjuvans i. m.

Gruppe I: tägl. je 25 mg Pferde-IgG
intrastral

Gruppe II: tägl. je 25 mg Pferde-IgG
intraperitoneal

Kontrollgruppe: tägl. je 0,5 ml physiol. NaCl
intraperitoneal

Resorptionsmessung nach oraler Appl.
von je 75 mg ¹³¹I-markiertem Pferde-IgG

Resorptionsmessung wie oben

Challenge wie oben



peritoneal appliziert.

2. 1. 5. Challenge der Ratten mit Pferde-IgG und Hammelerythrozyten

Acht Tage nach Beendigung obiger Behandlung wurden die Tiere aller drei Gruppen nach folgendem Verfahren einer Antigenbelastung ausgesetzt. Jeder Ratte wurde 1,0 mg Pferde-IgG zusammen mit 0,2 ml komplettem Freundschem Adjuvans und 0,2 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung in den Glutaealmuskel injiziert. Um zu sehen, inwieweit sich bei der speziellen Behandlung der Ratten mit Pferde-IgG in oben beschriebener Weise die allgemeine immunologische Reaktionslage der Tiere geändert hat, wurden sie einer Antigenbelastung mit Hammelerythrozyten ausgesetzt. Dazu wurden frische Hammelerythrozyten dreimal in physiologischer Kochsalzlösung (pH 7,2) gewaschen. Jede Ratte bekam 1×10^9 Hammelerythrozyten, die in 0,5 ml physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt waren, intraperitoneal appliziert.

2. 1. 6. Resorptionsmessung bei den Ratten

Die Ratten aller drei beschriebenen Gruppen erhielten nach mehr als 12-stündiger Nüchternheit im Atherrausch über einen in den Magen gelegten Polyäthylenschlauch je 75,0 mg (1,5 ml) 131 -Jod-markiertes Pferde-IgG appliziert. Sechs Stunden danach wurden sie durch Entbluten getötet. Im weiteren wurde genauso vorgegangen, wie unter 2. 1. 3. bereits beschrieben wurde.

2. 2. Methoden

2. 2. 1. Immunologische Testmethoden in vivo

Als einzige immunologische Testmethode in vivo wurde der Hauttest bei den Kaninchen angewandt. Die Tiere wurden am Rücken rasiert und mit dem Haarentferner Pilca (Fa. Olivin, Wiesbaden) behandelt. Anschließend wurden bei allen Kaninchen in einheitlicher Anordnung durch intrakutane Injektion von steriler physiologischer Kochsalzlösung, von unverdünntem Pferde-IgG (Fa. Behringwerke, Marburg) und von Pferde-IgG in der Verdünnung 1:10, 1:100 und 1:1000 (verdünnt wurde mit steriler physiologischer Kochsalzlösung) Quaddeln mit einem Volumen von 0,05 ml gesetzt. Die Reaktion wurde nach 30 Minuten und nach 24 Stunden abgelesen.

2. 2. 2. Immunologische Testmethoden in vitro

2. 2. 2. 1. Elektrophorese

Zellulose-Acetat-Folien (Mikrophor von Fa. Boskamp, Hersal) wurden beidseitig in Veronalpuffer (pH 8,0) getaucht. Auf die Folien, die auf den Haltern so befestigt wurden, daß die beiden Folienenden in die mit Michaelispuffer (pH 8,6) gefüllten Kammern eintauchten (Gerät von Fa. Boskamp, Bad Godesberg), wurde mit einem Stempel jeweils die gleiche Menge Serum aufgetragen. Die Trennung der Proteinfractionen je nach Größe und elektrischer Ladung geschah im elektrischen Feld, das zwischen den beiden Kammern mit einer angelegten Gleich-

spannung von 250 V über die Zeit von ca. 25 Minuten aufgebaut wurde. Die so getrennten Proteinbande wurden mit Methylenblau gefärbt, nicht gebundenes Färbemittel mit Eisessig-Methylalkoholgemisch (1:9) ausgewaschen. Die Folien wurden anschließend mit Transparentlösung (Dioxan - Isobutanol im Verhältnis 8:2) durchsichtig gemacht, auf Objektträger aufgezogen und im Brutschrank bei 37° C getrocknet. Die Auswertung erfolgte mittels eines Extinktionsschreibers, der mit einem Integralschreiber gekoppelt war (Fa. Zeiss, Oberkochen).

2. 2. 2. 2. Agargel-Doppeldiffusionstest nach OUCHTER-LONY (94)

4,5 g Agar purum (Fa. Behringwerke, Marburg) ließen wir in 100 ml Michaelispuffer (pH 8,2) + 200 ml Aqua dest. und 0,6 g Agar purum in 10 ml Michaelispuffer + 20 ml Aqua dest. 24 Stunden lang bei Raumtemperatur quellen. Das entspricht 1,5 %-igem und 2 %-igem Agar. Nach Zusatz von einer Spatelspitze Cialit^R (Asid-Institut, München) wurde der Agar kurz zum Aufkochen gebracht und bis zur Verwendung im Wasserbad auf ca. 80° C gehalten. Vom 2 %-igen Agar wurde ein dünner Film auf entfettete Objektträger aufgetragen und anschließend im Hitzeschränk bei 60° C in ca. 15 Minuten angetrocknet. Damit ließ sich ein besseres Haften des 1,5 %-igen Agars auf den Objektträgern erreichen, die mit je 3,0 ml 1,5 %-igem Agar beschichtet wurden. Nach dem Erkalten wurden um ein mittleres Loch von

6 mm Durchmesser sechs Löcher mit einem Durchmesser von 2 mm ausgestanzt, die in folgender Weise beschickt wurden: das größere Loch wurde randvoll (ca. 0,05 ml) mit dem zu untersuchenden Serum, die kleineren mit den Antigensubstanzen gefüllt (je Loch ca. 0,006 ml). Nach 24 Stunden Diffusionszeit in feuchten Kammern, denen als Bakteriostatikum Thymol zugesetzt war, wurden die Objektträger 48 Stunden lang in mehrmals erneuerte physiologische Kochsalzlösung gelegt, um nicht gefälltes Protein auszuwaschen. Die Präzipitate wurden mit Amidoschwarz gefärbt, nicht gebundenes Färbemittel mit Eisessig-Methylalkohol-Gemisch (1:9) entfernt.

2. 2. 2. 3. Aktive Hämagglutination

Von den zu untersuchenden Seren wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt (1:2, 1:4, 1:8 etc.). Die Erythrozyten von frischem EDTA-Pferdeblut wurden dreimal in physiologischer Kochsalzlösung (pH 7,2) gewaschen. Je 0,025 ml einer 1 %-igen Lösung der gewaschenen Erythrozyten wurde zu den Serumverdünnungen dazugegeben. Nach einer Inkubationszeit von zwei Stunden bei 37° C wurden die Proben abgekühlt, bei 4° C 30 Minuten lang gelagert und anschließend unter dem Mikroskop auf Agglutination geprüft.

2. 2. 2. 4. Passive Hämagglutination

Statt der aufwendigen indirekten Makrohämagglutinationsmethode nach BOYDEN (16) wurde folgender Mikrohämagglu-

tinationstest nach RING et al. (97) durchgeführt. Es wurden Plastikplatten, in die je 96 Vertiefungen eingestanzt waren (Cooke Engineering Co.) verwendet.

In jede Vertiefung kamen 0,05 ml physiologische Kochsalzlösung (pH 7,2), in die erste Vertiefung jeder Reihe zusätzlich 0,05 ml des zu untersuchenden Serums. Durch Umpipettieren von jeweils 0,05 ml Gemisch von der ersten zur zweiten Vertiefung usw. wurde eine Verdünnungsreihe hergestellt. Anschließend wurde zu jeder Verdünnungsstufe je 0,025 ml einer stabilen, gegen das Antigen sensibilisierten Zellsuspension dazugefügt. Nach einer Inkubation von zwei Stunden bei Raumtemperatur wurden die Proben makroskopisch auf Agglutination geprüft.

2. 2. 3. Resorptionsmessung

2. 2. 3. 1. Markierung von Pferde-IgG mit 131 -Jod

Nach der von FRANKS, TAKEDA und REEVE (53) beschriebenen Methode wurde die Markierung von Pferde-IgG mit 131 -Jod vorgenommen. Das zu markierende Protein wurde in eine auf 0° C gekühlte Glaskammer gefüllt; zur Pufferung wurde Glycinegemisch im Verhältnis 1:0,5 dazugegeben. Dann wurden 100 Mikrocurie Na- 131 -J, die in Natriumthiosulfatlösung gepuffert waren und die spezifische Aktivität von 5 - 20 Ci 131 -J/mg J hatten (Fa. Buchler, Amersham, Braunschweig), mit 0,9 %-iger Kochsalzlösung auf das Volumen von 1,0 ml verdünnt. Nach Beigabe von vier Tropfen einer 1 n HCl wurde

dieses Gemisch zunächst auf ca. 40° C erwärmt und darauf wieder schnell abgekühlt. Sobald eine Temperatur von ca. 4° C erreicht war, wurde tropfenweise so viel inaktiver Natrium-Jodid/Jodat-Puffer (50,0 mg NaJ + 200,0 mg JO_3) hinzugefügt, bis durch Oxydation grau-braunes Jod entstanden war. Jetzt wurde das radioaktive Gemisch zum gepufferten Protein in die Glaskammer geschüttet. War die Markierung gelungen, bildete sich ein violetter Ring, der bei intensivem Rühren völlig verschwand, woraufhin das Protein wieder seine ursprüngliche Farbe zeigte; jetzt war das radioaktive Jod an die Doppelbindungen der Tyrosinringe des Proteins gebunden. Abschließend wurden dem Gemisch in der Glaskammer vier Tropfen einer $1/10$ n HCl dazugegeben.

2. 2. 3. 2. Trennung der markierten Proteine von dem ungebundenen Indikator

Da beim Markierungsprozeß nicht das gesamte zugefügte ^{131}J -Jod an Protein gebunden wird, befindet sich in dem Gemisch neben dem radioaktiv markierten Protein auch noch ungebundene, freie Aktivität. Diese freie Aktivität wird von der proteingebundenen mittels einer Gelchromatographie mit einer Sephadex-Säule (Sephadex G-200 bzw. G-25, Fa. Pharmacia, Schweden) getrennt. Mit dieser Methode ist eine gute Trennung erreichbar, da die beiden zu trennenden Substanzen in ihrem Molekulargewicht sehr stark differieren. Um die Dauer und Festigkeit der Jodproteinbindung zu prüfen, wurde einige

Tage später eine Proteinfällung mit Trichloressigsäure (10 %) bzw. auch Perchlorsäure (3 %) durchgeführt; es zeigte sich dabei, daß der Anteil der fällbaren Radioaktivität bei über 99 % der Gesamtaktivität lag. In einer nochmals vorgenommenen chromatographischen Trennung mit Sephadex G-25 wurden diese Resultate bestätigt. Zu den Resorptionsversuchen wurde nur markiertes Protein verwendet, bei dem die Markierung nicht länger als 24 Stunden zurücklag.

2. 2. 3. 3. Radiochromatographie

Es wurden Glassäulen mit einer Höhe von 25 cm und einem Innendurchmesser von zwei cm benützt, bei denen sich kurz vor dem Auslaufstutzen, der mit einem Glashahn regulierbar war, eine Fritte befand. In die Glassäulen wurden 20 - 25 ml Sephadex G-25 fine (Fa. Pharmacia, Schweden) eingefüllt, welches vorher mindestens zwölf Stunden lang in physiologischer Kochsalzlösung (pH 7,2) bei Raumtemperatur gequollen war. Nach Abtropfen der Kochsalzlösung wurde die Säule vorsichtig mit dem zu untersuchenden Serum (ca. 5 ml) beschickt. Da großmolekulare Substanzen die nach dem Prinzip eines Molekularsiebes wirkende Säule schneller passieren, erscheinen sie früher im Eluat als das kleinemolekulare Natriumjodid. Bei einer Auslaufgeschwindigkeit von ca. 30 Tropfen pro Minute wird das Eluat milliliterweise in Meßgläschen aufgefangen und die Radioaktivität darin bestimmt. Auf semilogarithmischem

Papier werden die Impulse in 1 ml gegen das insgesamt ausgelaufene Volumen aufgetragen. Ergibt sich eine deutliche Trennung zwischen einem ersten und einem zweiten Maximum der Radioaktivität, so entspricht das einer exakten Differenzierung zwischen großmolekularem markierten Protein und kleinmolekularen markierten Proteinfragmenten bzw. ungebundenem radioaktiven Natriumjodid.

2. 2. 4. Verwendete Substanzen

Als Fremdprotein wurde sowohl bei den Kaninchen als auch bei den Ratten gereinigtes, nicht ultrazentrifugiertes Immunglobulin G von normalem Pferdeserum (Chargen-Nr. 161905) verwendet, das von Dr. F. Seiler, Fa. Behringwerke AG, zur Verfügung gestellt wurde. Als Adjuvans wurde komplettes Freundsches Adjuvans (Fa. DIFCO Laboratories, Detroit, USA) verwendet.

2. 2. 5. Histologische Untersuchung

Von den Kaninchen wurden unmittelbar nach dem Entbluten Leber, Nieren, Milz und Jejunum entnommen. Jeweils ein Stück dieser Organe wurde in Formalin (40 %-iger Formaldehyd) gelegt, ein anderes Stück mit flüssigem Stickstoff vereist. Die Herstellung und Auswertung der histologischen Präparate wurde von Dr. K. Pielsticker, Pathologisches Institut der Universität München, übernommen.

2. 2. 6. Statistische Auswertung

Signifikante Unterschiede der Mittelwerte von zwei zu vergleichenden Gruppen wurden mit dem Student-t-Test ermittelt.

3. ERGEBNISSE

3. 1. Immunologische Veränderungen nach parenteraler Applikation von Pferde-IgG bei Kaninchen und Ratten

3. 1. 1. Antikörperbildung

3. 1. 1. 1. Bildung hämagglutinierender Antikörper

Bei den Kaninchen ließen sich unter der Immunisierung mit i.m.-Injektionen von Pferde-IgG + komplettem Freundschem Adjuvans in aktiver und passiver Hämagglutination ansteigende Titer feststellen. Bei einem Ausgangstiter von 0 waren bereits zwei Wochen nach Beginn der Immunisierungsbehandlung bei zwei Kaninchen die aktiven Hämagglutinationstiter positiv (1:10 und 1:4). Eine Woche nach Beendigung der Immunisierungsbehandlung war ein maximaler aktiver Hämagglutinationstiter von 1:1024 und ein passiver Titer von maximal 1:32000 nachweisbar. Wenn auch die Höhe der Antikörpertiter von Tier zu Tier schwankte, so waren doch alle Kaninchen deutlich gegen Pferde-IgG sensibilisiert. In Tab. 1 (S. 21) ist zusammenfassend die Entwicklung der Hämagglutinationstiter bei den sensibilisierten Kaninchen dargestellt; gleichzeitig werden die Hämagglutinationstiter und die Anzahl der Präzipitationslinien im Agargel-Doppeldiffusionstest gegenübergestellt.

Ratten, die zwei Wochen lang täglich je 25 mg Pferde-IgG intraperitoneal injiziert bekamen und dann nach einer

Tab. 1: Entwicklung der Hämagglutinationstiter und Anzahl der Präzipitationslinien in der Immunisierungsphase bei Kaninchen

Kaninchen Nr.	vor Behandlung		während Behandlung				nach Behandlung	
	T ¹⁾	L ²⁾	2 Wochen		3 Wochen		T	L
			T	L	T	L		
1	0	0	0	0	0	1	64	2
2	0	0	0	0	16	1	1024	2
3	0	0	0	1	0	2	256	4
4	0	0	0	1	0	1	128	3
5	0	0	0	1	4	1	256	2
6	0	0	0	0	0	1	16	1
7	0	0	0	0	0	1	64	2

¹⁾Die Werte geben den reziproken Titer der aktiven Hämagglutination wieder.

²⁾Anzahl der Präzipitationslinien im Agargel-Doppeldiffusionstest

Woche einem Challenge mit Pferde-IgG + komplettem Freundschem Adjuvans ausgesetzt wurden, zeigten im Vergleich zu einer anderen Gruppe von Ratten, bei der ohne vorherige Behandlung allein Challenge durchgeführt wurde, eine eindeutig niedrigere Antikörperbildung. Bei einem Ausgangstiter von 0 wiesen die Tiere mit vorausgehender parenteraler Fremdproteinapplikation nach der Antigenbelastung im Durchschnitt einen Hämagglutinationstiter von $2,4 \pm 0,7$ (gemessen mit der aktiven Hämagglutination) und von $3,0 \pm 0,3$ (gemessen mit der passiven Hämagglutination) Titerstufen auf.

Der Hämagglutinationstiter der Tiere aus der Kontrollgruppe ohne Vorbehandlung mit Pferde-IgG stieg vom Ausgangswert 0 auf Challenge mit Pferde-IgG hin bis $6,4 \pm 0,8$ Titerstufen in der aktiven und bis $9,0 \pm 0,9$ Titerstufen in der passiven Hämagglutination an. In Tab. 2 (S. 23) ist die immunologische Reaktionslage der Ratten dargestellt, wobei die S. 28 aufgeführten Ergebnisse (Antikörperbildung nach oraler Fremdproteinapplikation) bereits in die Tabelle aufgenommen wurden.

3. 1. 1. 2. Bildung präzipitierender Antikörper

Bei drei Kaninchen konnten bereits 12 Tage nach Anfang der Immunisierungsbehandlung präzipitierende Antikörper im Agargel-Doppeldiffusionstest nachgewiesen werden; nach knapp drei Wochen gelang dies bei allen Kaninchen. Eine Woche nach Abschluß der Immunisierungsbehandlung wurden zwei bis maximal vier Präzipitationslinien sichtbar. Wie Tab. 1 (S. 21) zeigt, läßt sich die Anzahl der Präzipitationslinien in keine sichtbare Relation

Tab.2: Antikörperbildung bei Ratten nach oraler bzw. parenteraler Pferde-IgG-Applikation + Challenge mit Pferde-IgG und bei Ratten nach alleinigen Challenge mit Pferde-IgG

Gruppe und Behandlung	Titerstufe der aktiven Häm- agglutination ¹⁾	Titerstufe der passiven Häm- agglutination ¹⁾	Präzipitierende Antikörper	n
Intraperitone- ale Fremdprote- inapplikation + Challenge	2,4 ± 0,7	3,0 ± 0,3	0	5
Orale Fremdpro- teinapplikation + Challenge	0,2 ± 0,1	1,8 ± 0,5	0	10
Kontrolle ohne Vorbehandlung, nur Challenge	6,4 ± 0,8	9,0 ± 0,9	0	5

¹⁾Die Werte geben jeweils die Titerstufen bei einer Verdünnungsreihe von 1:2, 1:4, 1:8 etc. wieder.

zu der Höhe der Hämagglutinationstiter bringen.

Bei den Ratten ließen sich im Verlauf des ganzen Versuches keine präzipitierenden Antikörper nachweisen.

3. 1. 2. Veränderung der Serumproteinzusammensetzung

In diesem Zusammenhang soll nur der Anteil der Gamma-Globulin-Fraktion am Gesamteiweiß als ein Indikator für die Immunitätslage der Tiere betrachtet werden. Während zu Beginn der Immunisierungsbehandlung bei den Kaninchen der Anteil der Gamma-Globuline $11,9 \pm 0,4$ % am Serumeiweiß betrug, steigerte sich dieser Anteil auf durchschnittlich $20,3 \pm 1,3$ % bei Ende der Behandlung nach vier Wochen. Eine Übersicht über die Veränderung der Serumproteinzusammensetzung bei den Kaninchen gibt die Tab. 3 (S. 25). Die Gesamteiweißkonzentration blieb im Verlauf der Immunisierung unverändert bei 6,0 g/100 ml.

Bei der Gruppe der Ratten, die zwei Wochen lang täglich je 25 mg Pferde-IgG intraperitoneal appliziert bekamen, stieg der Anteil der Gamma-Globulin-Fraktion von anfänglich $8,0 \pm 0,4$ % auf $14,2 \pm 0,5$ % bei Ende dieser Behandlung und betrug nach der Antigenbelastung mit Pferde-IgG + komplettem Freundschem Adjuvans $13,4 \pm 1,2$ % bei unveränderter Gesamteiweißkonzentration von 6,2 g/100 ml.

Bei der Gruppe der Ratten ohne Vorbehandlung mit Pferde-IgG erhöhte sich der Anteil der Gamma-Globulin-Fraktion von $8,6 \pm 0,6$ % vor der Antigenbelastung

Tab. 3: Veränderung der Serumproteinzusammensetzung bei den Kaninchen

	Albumin ¹⁾	alpha ₁	alpha ₂	beta	gamma	n
Vor Immuni- sierung	61,9 ± 0,6	6,0 ± 0,8	5,1 ± 0,3	14,7 ± 0,5	12,2 ± 1,3	7
Nach Immuni- sierung	57,0 ± 1,6	6,3 ± 0,7	3,4 ± 0,2	11,6 ± 0,7	21,9 ± 1,3	7

¹⁾Die Werte geben den prozentualen Anteil der einzelnen Fraktionen am Gesamtserum-eiweiß wieder.

auf $16,4 \pm 1,0$ % danach; auch bei dieser Gruppe blieb die Gesamteiweißkonzentration konstant (6,3 g/100 ml). In Abb. 3 sind die Veränderungen der Gamma-Globulin-Fraktion bei den Ratten dargestellt.

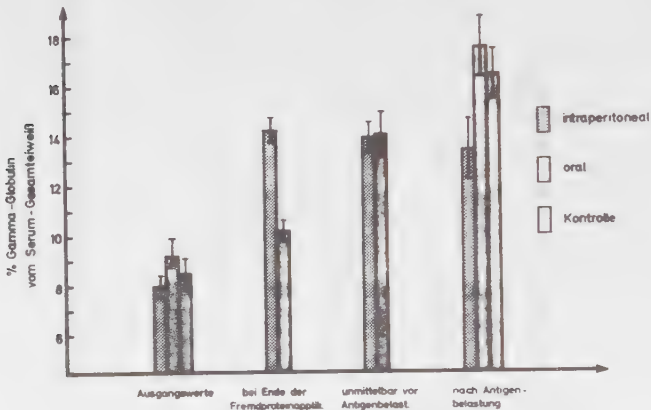


Abb. 3: Veränderung der Gamma-Globulin-Fraktion bei Ratten nach parenteraler und oraler Applikation von Fremdprotein und nachfolgender Antigenbelastung
Tab. 4 (S. 27) faßt das Verhalten aller Proteinfractionen nach parenteraler Fremdproteinapplikation zusammen.

3. 1. 3. Sensibilisierungsnachweis bei den Kaninchen durch den Hauttest

Zu Beginn der Immunisierung war der Hauttest bei allen Tieren negativ. Nach deren Abschluß zeigten sechs Tiere bei einer Verdünnung von 1:100 und ein Tier bei einer Verdünnung von 1:1000 eine Reaktion vom Soforttyp (Arthus-Phänomen).

Tab. 4: Veränderung der Serumproteinzusammensetzung bei Ratten nach parentaler Fremdproteinapplikation

	Albumin ¹⁾	alpha ₁	alpha ₂	beta	gamma	n
Gruppe i.p.						
Ausgangs- wert	50,1 ± 0,8	22,1 ± 1,0	9,3 ± 0,2	10,1 ± 0,1	8,4 ± 0,6	5
Nach Fremd- protein- applikation	40,8 ± 0,6	20,6 ± 0,7	11,0 ± 0,2	12,1 ± 0,3	15,5 ± 0,5	
Nach Chal- lenge	42,6 ± 0,8	20,8 ± 0,7	9,6 ± 0,2	12,4 ± 0,5	14,4 ± 1,2	
Kontrolle						
Ausgangs- wert	50,3 ± 0,7	22,8 ± 0,4	8,2 ± 0,6	10,3 ± 0,4	8,4 ± 0,5	5
Nach Chal- lenge	39,2 ± 2,6	20,0 ± 0,8	10,6 ± 0,9	12,4 ± 0,5	17,8 ± 1,4	

¹⁾Die Werte geben den prozentualen Anteil der einzelnen Fraktionen am Gesamtsereum-eiweiß wieder.

3. 2. Immunologische Veränderungen nach enteraler
Applikation von Pferde-IgG bei Kaninchen und
Ratten

3. 2. 1. Induktion einer immunologischen Reaktions-
losigkeit gegen Pferde-IgG bei Ratten durch
enterale Applikation von Pferde-IgG

3. 2. 1. 1. Bildung hämagglutinierender Antikörper

Die Ratten, die zwei Wochen lang täglich je 25 mg
Pferde-IgG oral verabreicht bekommen hatten, zeigten
nach einer Antigenbelastung mit Pferde-IgG + komplettem
Freundschem Adjuvans im Test der aktiven Hämagglutina-
tion praktisch keinen Titeranstieg ($0,27 \pm 0,1$ Titer-
stufen), in der passiven Hämagglutination einen Titer-
anstieg auf $1,8 \pm 0,5$ Titerstufen. Der hohe Mittelwert
bei der passiven Hämagglutination ist hauptsächlich
dadurch bedingt, daß bei diesem Test ein Tier einen
Titeranstieg um sechs Stufen aufwies.

Der Titeranstieg bei Ratten ohne Vorbehandlung betrug
nach der gleichen Antigenbelastung $6,4 \pm 0,8$ Titer-
stufen in der aktiven und $9,0 \pm 0,9$ Titerstufen in
der passiven Hämagglutination.

Während also die Tiere der Kontrollgruppe 14 Tage nach
der einmaligen Antigenbelastung mit einer eindeutigen
Antikörperproduktion gegen das applizierte Fremdprotein
reagierten, fehlte bei den Tieren, die vorher 14 Tage

lang je 25 mg Pferde-IgG oral verabreicht bekommen hatten, eine nachweisbare Antikörperproduktion, von einer einzigen Ausnahme abgesehen.

Präzipitierende Antikörper waren bei keiner der beiden Gruppen zu finden. In Tab. 2 (S. 23) ist zusammenfassend die immunologische Reaktionslage der Ratten dargestellt.

Zur Kontrolle der allgemeinen Immunreaktion wurden die Tiere beider Gruppen gleichzeitig einer Antigenbelastung mit Hammelerythrozyten ausgesetzt. 14 Tage danach war bei allen Tieren ein deutlicher Agglutinationstiter für Hammelerythrozyten festzustellen (bei drei Tieren 1:16, bei den übrigen 1:32). Das bedeutet, daß die allgemeine immunologische Reaktionslage der Versuchstiere durch die vorausgehende Behandlung nicht beeinträchtigt war. Das läßt den Schluß zu, daß es sich bei der Reaktionslosigkeit der oral behandelten Tiere um einen spezifischen Prozeß handelte, der ursächlich mit der oralen Applikation von Pferde-IgG zusammenhing.

Als Ergebnis bleibt festzuhalten:

Durch die orale Applikation von Pferde-IgG ist es möglich, bei Ratten eine systemische immunologische Reaktionslosigkeit auf Pferde-IgG zu induzieren.

3. 2. 1. 2. Veränderung der Serumproteinzusammensetzung bei Ratten nach oraler Applikation von Pferde-IgG

Während der zweiwöchigen oralen Applikation von Pferde-IgG blieb der prozentuale Anteil der Gamma-Globulin-Fraktion unverändert ($9,2 \pm 0,4 \%$). Eine Woche danach hatte sich die Gamma-Globulin-Fraktion auf $14,0 \pm 0,9$ Relativprozente erhöht und stieg nach der Antigenbelastung weiter auf $17,5 \pm 1,2 \%$, obwohl - wie oben schon erwähnt - weder hämagglutinierende noch präzipitierende Antikörper nachweisbar waren. Die Gesamteiweißkonzentration ($6,2 \text{ g}/100 \text{ ml}$) änderte sich im Laufe der Behandlung nicht. In Abb. 3 (S. 26) ist das Verhalten der Gamma-Globuline graphisch dargestellt und Tab. 5 (S. 31) zeigt zusammenfassend die Veränderungen aller Proteinfractionen nach oraler Pferde-IgG-Verabreichung mit nachfolgender Antigenbelastung.

3. 2. 2. Immunologische Veränderungen bei Pferde-IgG- sensibilisierten Kaninchen nach oraler Anti- genapplikation

3. 2. 2. 1. Erniedrigung des Antikörpertiters

Die drei Kaninchen, die nach der Immunisierung nicht weiterbehandelt wurden, zeigten im Verlauf der achtwöchigen Beobachtungszeit keinen Abfall des Hämagglutinationstiters; im Gegenteil, bei einem Kaninchen stieg er noch von 1:16 auf 1:32 und bei einem anderen von

Tab. 5: Veränderung der Serumproteinzusammensetzung bei Ratten nach oraler Applikation von Fremdprotein und nachfolgender Antigenbelastung

	Albumin ¹⁾	alpha ₁	alpha ₂	beta	gamma	n
Ausgangswerte	48,2 ± 0,7	21,9 ± 0,6	9,5 ± 0,4	10,1 ± 0,2	10,5 ± 0,6	10
Nach oraler Fremdprotein- applikation	45,0 ± 1,4	18,5 ± 0,5	8,4 ± 0,3	13,0 ± 0,4	14,0 ± 1,2	
Nach Challenge	39,6 ± 1,3	18,0 ± 0,3	8,5 ± 0,4	14,0 ± 0,4	19,1 ± 1,1	

¹⁾Die Werte geben den prozentualen Anteil der einzelnen Fraktionen am Gesamtsereum-eiweiß wieder.

1:64 auf 1:256 (gemessen jeweils mit der aktiven Hämagglutination).

Bei den Kaninchen dagegen, die nach der Immunisierung steigende Dosen von Pferde-IgG verfüttert bekamen, gingen die Hämagglutinationstiter im Verlauf der ersten drei Behandlungswochen durchwegs zurück. Bei zwei Kaninchen war während der nächsten fünf Behandlungswochen keine Veränderung des Titors mehr festzustellen; ein Kaninchen zeigte einen weiteren Abfall des Titors um zwei Stufen, ein Kaninchen hingegen ein Wiederanstiegen um zwei Stufen. In Tab. 6 (S. 33) ist die Entwicklung der Agglutinationstiter zusammengefaßt.

Errechnet man den Mittelwert der Veränderungen der Titerstufen von Test- und Kontrollgruppe und trägt man ihn gegen die Zeit der Behandlungsdauer auf, so wird das differente Verhalten der beiden Gruppen noch anschaulicher, wie die folgende Abb. 4 zeigt.

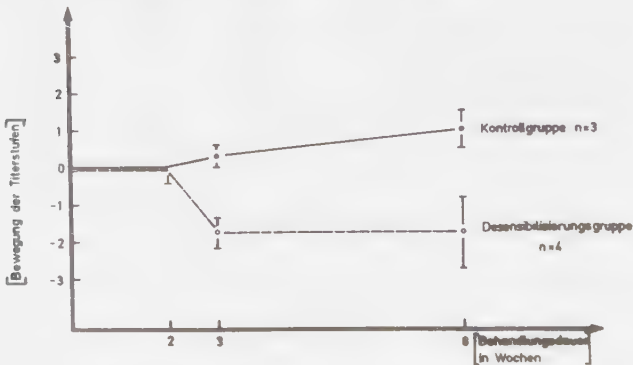


Abb. 4: Veränderung der Hämagglutinationstiter bei immunisierten Kaninchen während der Desensibilisierung

Tab. 6: Veränderung der aktiven Hämagglutinationstiter immunisierter Kaninchen unter der oralen Zufuhr von Pferde-IgG

Testtiere	Ausgangswert ¹⁾	Nach 2 Wochen Behandlung	Nach 3 Wochen Behandlung	Nach 8 Wochen Behandlung
1	64	128	32	8
2	1024	1024	128	128
3	128	128	64	256
4	256	128	64	64
Kontrolltiere				
1	256	256	256	256
2	16	16	32	32
3	64	64	64	256

¹⁾Die Werte geben den reziproken Hämagglutinationstiter der einzelnen Tiere wieder.

3. 2. 2. 2. Veränderte Reaktion im Hauttest

Nach Abschluß der Immunisierung war der Hauttest bei sechs Kaninchen bei einer Verdünnung von 1:100, bei einem Kaninchen bei 1:1000 positiv. Wie die Tab. 7 (S. 35) zeigt, reagierten die Tiere, die nach der Immunisierung oral Pferde-IgG zugeführt bekommen hatten, jeweils nur noch bei einer kleineren Verdünnung, während die Reaktionslage der Kontrolltiere im gleichen Zeitraum durchwegs unverändert blieb.

3. 2. 2. 3. Beeinflussung der Serumproteinzusammensetzung

Bezüglich des relativen Anteils der Gamma-Globulin-Fraktion am Serumgesamteiweiß ergaben sich keine nachweisbaren signifikanten Unterschiede zwischen den Tieren, die nach der Immunisierung oral Fremdprotein zugeführt bekamen, und denen, die nicht weiterbehandelt wurden, wie aus Tab. 8 (S. 36) hervorgeht.

Wenn auch durch die orale Applikation von Pferde-IgG die Immunisierung der Kaninchen nicht rückgängig gemacht werden konnte, so zeigen doch die angeführten Ergebnisse, daß durch orale Applikation eines Fremdproteins eine vorhandene spezifische immunologische Reaktionslage beeinflussbar ist.

Tab. 7: Veränderung der Reaktion im Hauttest bei immunisierten Kaninchen unter der oralen Zufuhr von Pferde-IgG

Testtiere	Positive Reaktion vor Desensibilisierungsbehandlung	Positive Reaktion nach 8-wöchiger Desensibilisierungsbehandlung
1	1 : 100 ¹⁾	1 : 10
2	1 : 100	1 : 10
3	1 : 1000	1 : 100
4	1 : 100	1 : 10
Kontrolltiere		
1	1 : 100	1 : 100
2	1 : 100	1 : 100
3	1 : 100	1 : 100

¹⁾Die Werte geben jeweils die Verdünnung des Pferde-IgG an, bei der noch eine positive Hautreaktion sichtbar war.

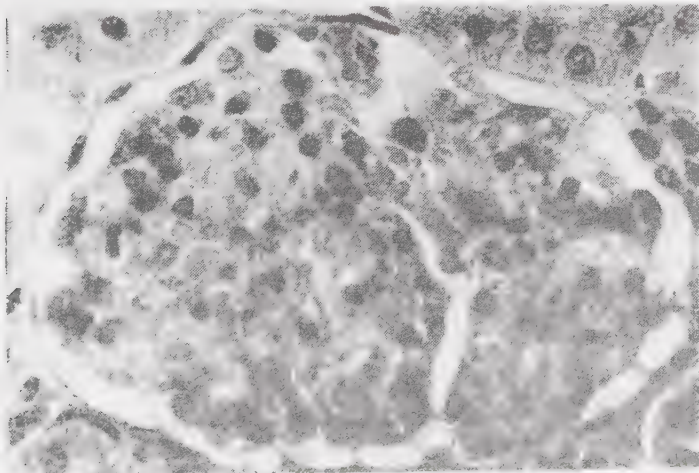
Tab. 8: Serumproteinzusammensetzung bei Kaninchen nach oraler Desensibilisierung

	Albumin ¹⁾	alpha ₁	alpha ₂	beta	gamma	n
Ohne Desensibilisierung	57,0 ± 1,9	6,0 ± 0,3	4,7 ± 0,4	8,5 ± 0,5	23,0 ± 2,0	3
Mit Desensibilisierung	59,0 ± 1,1	4,9 ± 0,5	3,8 ± 0,3	12,6 ± 1,3	19,8 ± 1,4	4

¹⁾Die Werte geben den prozentualen Anteil der einzelnen Fraktionen am Gesamterumweiß wieder.

3. 3. Histologische Veränderungen bei immunisierten und oral behandelten Kaninchen

Von den histologisch untersuchten Organen (Leber, Milz, Darm, Niere) wiesen die Nieren die deutlichsten pathologischen Veränderungen auf und zwar im Sinne einer Immunkomplexnephritis. Sowohl die nur immunisierten als auch die später desensibilisierten Kaninchen waren von dieser Erkrankung betroffen. Histologisch ließ sich bei den Kaninchen, mit denen die Desensibilisierungsversuche durchgeführt wurden, weder eine Veränderung zum Besseren noch zum Schlechteren im Vergleich mit den nur immunisierten Kaninchen feststellen. Das histologische Bild zeigt bei relativ gut erhaltenen Glomerulumschlingen und intaktem Bowmanschen Kapselraum eine deutliche Mesangiumzellproliferation, die vielleicht dafür spricht, daß das akute Stadium der Glomerulonephritis bereits überwunden ist.



3. 4. Einfluß der spezifischen Immunitätslage auf das Resorptionsverhalten

3. 4. 1. Resorptionsverhalten sensibilisierter Ratten und Kaninchen im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren

3. 4. 1. 1. Serumradioaktivität nach oraler Applikation von ^{131}I -Jod-markiertem Pferde-IgG bei immunisierten und unbehandelten Kaninchen

In Tab. 9 (S. 39) ist wiedergegeben, wieviel Prozent der applizierten Gesamtdosis an Radioaktivität zu den Zeitpunkten 0, eine Stunde, vier Stunden und sechs Stunden nach der Fütterung mit markiertem Pferde-IgG jeweils in einem Gramm Serum nachweisbar war.

Am auffälligsten ist das verzögerte Ansteigen der im Serum meßbaren Radioaktivität bei den immunisierten Tieren im Vergleich zu den unbehandelten Kontrolltieren eine Stunde nach der Fütterung (0,025 % gegenüber 0,071 % der applizierten Gesamtdosis pro g Serum).

Auch nach sechs Stunden liegt der Wert der immunisierten Tiere noch unter dem der Kontrolltiere (0,039 % gegenüber 0,059 %; $p < 0,025$).

Während der Abfall der gemessenen Radioaktivität bei den unbehandelten Tieren von Stunde eins bis Stunde sechs nicht signifikant ist, handelt es sich bei der Zunahme der Radioaktivität im Serum der immunisierten Kaninchen von Stunde eins bis Stunde sechs um einen

Tab. 9: Anstieg der Radioaktivität im Serum nach Fütterung von markiertem Pferde-IgG bei immunisierten und unbehandelten Kaninchen

Std.	Immunisierte Tiere	Unbehandelte Tiere
	n = 7	n = 5
0	0 ¹⁾	0
1	0,025 ± 0,002	0,071 ± 0,006
4	0,039 ± 0,007	0,066 ± 0,009
6	0,039 ± 0,002	0,059 ± 0,007

1) Die Werte geben wieder, wieviel Prozent der applizierten Gesamtdosis pro g Serum nachweisbar waren.

signifikanten Unterschied ($p < 0,001$).

Graphisch ist das divergierende Verhalten der beiden Gruppen in Abb. 5 dargestellt.

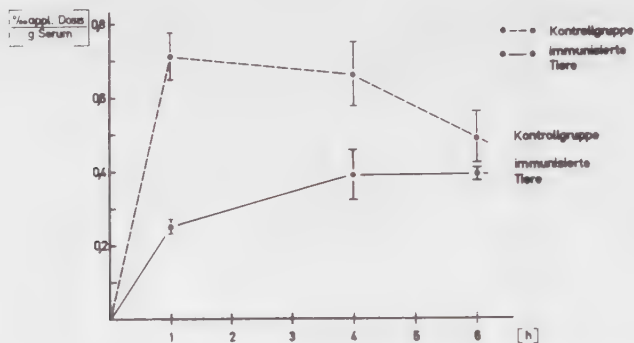


Abb. 5: Anstieg der Radioaktivität im Serum nach Fütterung von ^{131}J -markiertem Pferde-IgG bei immunisierten und unbehandelten Kaninchen

Der prozentuale Anteil der applizierten Gesamtdosis an Radioaktivität pro g Serum kann als Indikator für die Resorption der markierten Substanz aus dem Magen-Darm-Kanal der Tiere betrachtet werden. Dabei bleibt vorläufig noch unberücksichtigt, ob der radioaktive Marker noch an großmolekulares Protein oder an Proteinfragmente gebunden ist.

Aus den dargestellten Ergebnissen kann man folgern, daß bei Kaninchen, die gegen Pferde-IgG immunisiert sind, die enterale Resorption von Pferde-IgG

1. langsamer abläuft und
2. quantitativ geringer ist als bei unbehandelten Kontrolltieren.

3. 4. 1. 2. Organverteilung der Radioaktivität nach
oralen Applikation von ^{131}I -Jod-markiertem
Pferde-IgG bei immunisierten und unbehan-
delten Kaninchen und Ratten

Die Tab. 10 und 11 (S. 42, 43) zeigen, wieviel Prozent der oral applizierten Gesamtdosis an Radioaktivität in den einzelnen Organen nachweisbar ist. Die Unterschiede zwischen den verschiedenen Gruppen von Ratten und Kaninchen sind statistisch so gering, daß sich kein signifikant divergierendes Verhalten einer Gruppe feststellen läßt. Der einzige markante Unterschied liegt in der vermehrten Anreicherung der Radioaktivität in der Schilddrüse von unbehandelten im Vergleich zu immunisierten Kaninchen.

Von diesem Befund abgesehen, läßt sich sagen, daß die Organverteilung nach der Resorption des markierten Proteins durch die immunologische Reaktionslage der untersuchten Tiere nicht beeinflusst wird.

3. 4. 1. 3. Resorptionsrate von markiertem Fremdprotein
bei immunisierten und unbehandelten Kanin-
chen

Unter Resorptionsrate wird der Prozentsatz der applizierten Radioaktivität verstanden, der sechs Stunden nach oraler Applikation nicht mehr im Intestinaltrakt nachgewiesen werden konnte. Die Resorptionsrate wurde durch Subtraktion der im Magen-Darm-Inhalt verbliebenen

Tab. 10: Organverteilung der Radioaktivität bei Kaninchen nach oraler Applikation von markiertem Pferde-IgG

	Immunisierte Tiere n = 7	Unbehandelte Tiere n = 5
Milz	0,05 ± 0,01 ¹⁾	0,07 ± 0,01
Niere	1,63 ± 0,26	1,21 ± 0,17
Lunge	0,68 ± 0,10	0,42 ± 0,10
Leber	2,40 ± 0,32	1,84 ± 0,12
Schilddrüse	3,27 ± 0,70	7,68 ± 1,47

¹⁾Die Werte geben den prozentualen Anteil an der insgesamt applizierten Dosis pro g der Organe wieder.

Tab. 11: Organverteilung der Radioaktivität bei Ratten nach oraler Applikation von markiertem Pferde-IgG

	Immun. Tiere n = 5	Gruppe "i.p." n = 5	Gruppe "oral" n = 10	Unbeh. Tiere n = 5
Milz	0,05 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,07 ± 0,01	0,05 ± 0,01
Niere	0,53 ± 0,05	0,49 ± 0,02	0,32 ± 0,03	0,47 ± 0,04
Lunge	0,21 ± 0,03	0,26 ± 0,03	0,23 ± 0,07	0,21 ± 0,02
Leber	0,82 ± 0,10	0,95 ± 0,04	0,60 ± 0,28	0,67 ± 0,10
Schilddrüse	1,01 ± 0,09	1,29 ± 0,14	0,92 ± 0,10	0,87 ± 0,10

¹⁾Die Werte geben den prozentualen Anteil an der insgesamt applizierten Dosis pro g der Organe wieder.

Radioaktivität von der applizierten Gesamtdosis ermittelt. Auch bei dieser Untersuchung bleibt noch ungeklärt, inwieweit das markierte Fremdprotein im Verlaufe der Resorption degradiert wurde.

Die experimentellen Befunde sind in der Tab. 12 (S. 45) zusammengefaßt. Wenn auch der Unterschied in der Resorptionsrate zwischen immunisierten und unbehandelten Kaninchen ($82,3 \pm 0,9\%$ gegenüber $87,8 \pm 1,9\%$) im Grenzbereich einer statistischen Signifikanz liegt ($p < 0,05$), so gewinnt dieses Ergebnis im Zusammenhang mit den unter 3. 4. 1. 1. aufgeführten Befunden doch an Bedeutung, indem es darauf hinweist, daß die Resorption von Pferde-IgG bei Kaninchen, die gegen dieses Fremdprotein immunisiert sind, im Vergleich zu unbehandelten Kontrolltieren vermindert ist.

Vier der immunisierten Kaninchen waren einer Desensibilisierungsbehandlung unterzogen worden. Die Behandlung führte zu einem Rückgang der Hämagglutinationstiter, aber zu keiner vollen Aufhebung der Sensibilisierung. Das Resorptionsverhalten auch dieser vier Tiere wurde mit dem der immunisierten, aber nicht weiterbehandelten Kaninchen verglichen. Die Unterschiede in der Resorptionsrate ($84,1 \pm 1,5\%$ bei den desensibilisierten und $81,6 \pm 0,9\%$ bei den nicht weiterbehandelten Kaninchen) sind allerdings zu gering, um daraus irgendwelche Schlußfolgerungen ziehen zu können.

Tab. 12: Resorption von Pferde-IgG bei immunisierten, desensibilisier-
ten und unbehandelten Kaninchen

Gruppe	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	n
Unbehandelte Tiere	87,8 ¹⁾	1,98	5
Immunisierte Tiere	82,3	0,96	7
Immun. Tiere mit Desensibilisierungsbehandlung	84,1	1,50	4
Immun. Tiere ohne Desensibilisierungsbehandlung	81,6	0,87	3

¹⁾Die Werte geben an, wieviel Prozent der applizierten Dosis aus dem Intestinaltrakt resorbiert wurden.

3. 4. 1. 4. Anteil der an großmolekulare Bestandteile gebundenen Radioaktivität

Aufschluß darüber, inwieweit im Verlauf der Resorption das Fremdprotein hydrolytisch oder enzymatisch gespalten wird, kann die Radiochromatographie, d.h. die Auftrennung in groß- und kleinemolekulares Pferde-IgG geben. Läßt man das markierte Pferde-IgG durch eine Chromatographiesäule laufen und bestimmt man die Aktivität je ml Eluat, so ergibt sich eine typische Verteilungskurve mit einem ersten Maximum, das der an schnell laufendes großmolekulares Pferde-IgG gebundenen Radioaktivität entspricht, und einem zweiten Maximum, das den Anteil der Proteinbruchstücke bzw. der freien Radioaktivität wiedergibt. Beim Chromatographieren der Kaninchenserum ergibt sich im Prinzip die gleiche Verteilung. Zwar läßt sich nicht mit Sicherheit sagen, daß es sich bei der schnell laufenden Fraktion I ausschließlich um völlig unverändertes Pferde-IgG handelt, doch läßt die gleiche Auslaufgeschwindigkeit den Schluß zu, daß die in Fraktion I auftauchenden Substanzen bezüglich des Molekulargewichtes nicht sehr stark vom verfütterten Pferde-IgG verschieden sind. In Abb. 6 (S. 47) ist die Verteilungskurve der Radioaktivität bei der Chromatographie von markiertem Pferde-IgG und von Kaninchenserum nach oraler Applikation von markiertem Pferde-IgG dargestellt. Die Pfeile markieren die Grenze zwischen großmolekularer Fraktion I und kleinemolekularer Fraktion II.

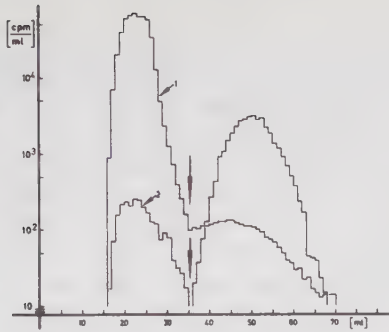


Abb. 6: Verteilungskurve der Radioaktivität bei der Chromatographie von markiertem Pferde-IgG (Kurve 1) und von Kaninchenserum nach oraler Applikation von markiertem Pferde-IgG (Kurve 2)

Die Tab. 13 (S. 48) zeigt, wieviel Prozent der im Serum gemessenen Radioaktivität an Pferde-IgG oder dessen großmolekulare Spaltprodukte gebunden ist. Der Vergleich der unbehandelten und der immunisierten Kaninchen, mit denen kein Desensibilisierungsversuch gemacht wurde, bringt keinen signifikanten Unterschied ($5,2 \pm 0,3 \%$ gegenüber $5,9 \pm 0,3 \%$).

Vergleicht man allerdings die immunisierten Kaninchen ohne Desensibilisierungsversuch mit den Kaninchen, bei denen nach der Immunisierung eine Desensibilisierung versucht wurde, ergeben sich deutliche Unterschiede. Der großmolekulare Anteil des Fremdproteins im Serum der ersten Gruppe liegt mit $5,9 \pm 0,3 \%$ signifikant niedriger als bei der zweiten Gruppe mit $7,4 \pm 0,2 \%$ ($p < 0,025$).

Mittels eines spezifischen Antiserums wurde im Agargel-Doppeldiffusionstest der Nachweis erbracht, daß die

Tab. 13: An großmolekulares Fremdprotein gebundene Radioaktivität im Serum von Kaninchen nach oraler Applikation von markiertem Pferde-IgG

Gruppe	$\bar{x}$	$s\bar{x}$	n
Unbehandelte Tiere	5,22 ¹⁾	0,35	5
Immun. Tiere ohne Desensibilisierungsbehandlung	5,96	0,31	3
Immun. Tiere mit Desensibilisierungsbehandlung	7,38	0,24	4

¹⁾Die Werte geben wieder, wieviel Prozent der im Serum meßbaren Radioaktivität an großmolekulares Fremdprotein gebunden sind.

großmolekulare Fraktion I nach der Chromatographie tatsächlich auch mit dem Fremdprotein identisch ist. Läßt man Antipferdeserum vom Kaninchen gegen die Fraktion I des Kaninchenserums diffundieren, gibt es Präzipitationen, nicht jedoch, wenn Fraktion II gegen Antipferdeserum diffundiert. Dies bedeutet, daß den großmolekularen Fremdproteinen bzw. -fragmenten im Verlauf der Resorption ihre biologische Aktivität insoweit erhalten blieb, daß sie mit dem entsprechenden Antiserum eine Antigen-Antikörperreaktion eingehen konnten.

Daraus ergibt sich, daß

1. Fremdprotein bzw. großmolekulare Spaltprodukte mit erhaltener biologischer Aktivität nach der Resorption im Blut erscheinen,
2. nach oraler Applikation von Fremdprotein der Anteil großmolekularen Fremdproteins im Serum von Kaninchen mit oralem Desensibilisierungsversuch höher liegt als bei den entsprechenden Vergleichsgruppen.
3. 4. 2. Resorptionsverhalten von Ratten mit ausgeprägter, abgeschwächter und fehlender Immunantwort nach Antigenbelastung

Die Ratten, deren immunologische Reaktionslage in Tab. 2 (S. 23) zusammengefaßt ist, wurden in ähnlicher Weise wie die Kaninchen bezüglich der Resorption von ¹³¹I-Jod-markiertem Pferde-IgG untersucht.

3. 4. 2. 1. Organverteilung der Radioaktivität nach
oraler Applikation von ^{131}I -Jod-markiertem
Fremdprotein bei Ratten mit fehlender Immun-
antwort

Aus der Tab. 11 (S.43) ist ersichtlich, daß der pro-
zentuale Anteil an der insgesamt applizierten Dosis von
Radioaktivität, der in den einzelnen Organen meßbar
war, offensichtlich nicht von der spezifischen Immuni-
tätslage beeinflußt wurde. Es bestehen keine signifikan-
ten Unterschiede in der Verteilung zwischen Ratten mit
ausgeprägter, abgeschwächter und fehlender Immunant-
wort und Ratten ohne jegliche Vorbehandlung.

3. 4. 2. 2. Resorptionsrate von markiertem Fremdprotein

Die experimentellen Befunde sind in Tab. 14 (S.51)
zusammengefaßt. Während der Unterschied im Resorptions-
verhalten zwischen der Gruppe von Tieren, die nach
intraperitonealer Injektion von Pferde-IgG und nach-
folgender Antigenbelastung nur noch eine schwache
Antikörperreaktion zeigten, und den Tieren, die nach
oraler Fremdproteinapplikation und Antigenbelastung
eine spezifische Reaktionslosigkeit aufwiesen, stati-
stisch nicht signifikant ist (intraperitoneal $80,1 \pm 1,8 \%$ und oral $84,9 \pm 1,4 \%$), ist die Resorptions-
rate der Tiere mit ausgeprägter Immunantwort mit
 $69,5 \pm 3,3 \%$ im Vergleich zu den intraperitoneal behan-
delten Tieren ($p < 0,025$) und den oral behandelten

Tab. 14: Resorption von markiertem Pferde-IgG bei Ratten mit ausgeprägter (Kontrollgruppe), geringer (Gruppe "intraperitoneal") und fehlender Immunantwort (Gruppe "oral")

Gruppe	$\bar{x}$	$s_{\bar{x}}$	Titerstufe	n
Kontrolle	69,54 ¹⁾	3,34	$6,4 \pm 0,8$ ²⁾	5
Intraperitoneal	80,12	1,83	$2,4 \pm 0,7$	5
Oral	84,90	1,40	$0,2 \pm 0,1$	8

¹⁾Die Werte geben an, wieviel Prozent der applizierten Dosis resorbiert wurden

²⁾Die Werte geben die Titerstufe ($\log_2$) der aktiven Hämagglutination wieder.

Tieren ($p < 0,01$) signifikant geringer.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß das Resorptionsverhalten von der spezifischen Immunitätslage beeinflußt wird; je höher nach Challenge mit Pferde-IgG der Antikörpertiter gegen dieses Fremdprotein ist, desto geringer ist dessen Resorption nach oraler Applikation.

3. 4. 2. 3. Anteil der an großmolekulare Bestandteile gebundenen Radioaktivität

Bei den Ratten konnte wegen der geringen Serummenge des einzelnen Tieres nicht von jeder Ratte gesondert der großmolekulare Anteil an Fremdprotein im Serum bestimmt werden; darum wurden die Seren der einzelnen Gruppen zur Chromatographie gepoolt.

Es zeigte sich, daß bei den immunisierten Kontrolltieren 3,53 %, bei den Tieren mit schwacher Immunantwort 6,66 % und bei den Tieren mit fehlender Immunantwort nach oraler Toleranzinduktion 86,5 % der im Serum nachweisbaren Radioaktivität an intaktes Fremdprotein bzw. dessen großmolekulare Spaltprodukte gebunden war. Da die Seren gepoolt werden mußten, ist es schwierig, die Signifikanz des Unterschiedes zwischen immunisierter Kontrollgruppe und der Gruppe mit schwacher Immunantwort festzustellen; sicher besteht aber ein hochsignifikanter Unterschied zu den Tieren mit oraler Toleranzinduktion. Die biologische Aktivität des Fremdproteins aus der Fraktion I der Rattenserum ließ sich wie bei den Kaninchen im Agargel-Doppeldiffusionstest nachweisen.

4. DISKUSSION

Nach den Untersuchungen von VOIT (120), HAIDENHAIN (60), WALZER (129), SEIFERT (99,100) und vielen anderen (5, 6, 24, 54, 67, 84, 96) ist nicht nur der neugeborene Säugetierorganismus dazu befähigt, mit der Nahrung zugeführtes Protein intakt zu resorbieren, sondern auch beim ausgereiften Individuum sind Nahrungsmittelproteine im Blut nachweisbar. Die Tatsache der Resorption von großmolekularen Fremdproteinen kann also als feststehend betrachtet werden und braucht hier nicht weiter diskutiert zu werden.

4. 1. Zusammenhang zwischen Resorption und Immunitätslage

Es erhebt sich die Frage, ob zwischen der immunologischen Funktion des Darmes (49,130) und seiner Resorptionsleistung ein Zusammenhang bzw. eine gegenseitige Beeinflußbarkeit besteht.

WALKER et al. (125) haben diesbezügliche Forschungen angestellt und sie kamen zu dem Ergebnis, daß eine spezifische orale Immunisierung von Ratten mit Rettich-Peroxidase bzw. Rinderserumalbumin die Resorption dieser Proteine erschwert. Durch Zugabe von Rettich-Peroxidase bzw. Rinderserumalbumin zum Trinkwasser wurden die Tiere oral immunisiert. Mit der everted-sac-Methode wurde die Resorption der entsprechenden

Proteine geprüft, wobei sich herausstellte, daß die Proteinaufnahme im Jejunum um ca. 50 % und im Ileum um ca. 30 % gegenüber unbehandelten Kontrolltieren vermindert war. Wenn es sich auch bei der everted-sac-Methode um ein unphysiologisches Modell handelt und damit die Reduktion der Resorption bei den immunisierten Tieren nicht ohne weiteres in gleicher Höhe für in vivo-Verhältnisse angenommen werden darf, so zeigt doch der Vergleich mit den Kontrollgruppen, daß die orale Immunisierung sich negativ auf die Fähigkeit der Proteinresorption auswirkt.

In anderen Untersuchungen wiesen WALKER et al. (127) auch nach, daß bei immunisierten Tieren durch die Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen die Pinozytose von Fremdprotein verhindert und damit aufgrund der längeren Einwirkung von Proteasen das Protein stärker degradiert wurde.

Auch nach den Ergebnissen von ANDRÉ et al. (2) wird durch die lokale Immunisierung des Darmes seine Fähigkeit zur spezifischen Proteinresorption beeinträchtigt. Durch die einmalige Applikation von 200 mg Humanserumalbumin mittels einer Magensonde wurden Ratten immunisiert; zwei Wochen später wurde die Resorption von Humanserumalbumin in vivo untersucht, indem die Konzentration des Fremdproteins im Mesenterialvenenblut nach intragastraler Applikation von 200 mg Humanserumalbumin bestimmt wurde. Zwar ergaben

sich je nach Bestimmungsmethode (Radioimmunoassay und radiale Immunodiffusion) verschieden hohe Serumkonzentrationen von Fremdprotein, doch bei beiden Bestimmungsmethoden erscheint im Mesenterialvenenblut der immunisierten Tiere signifikant weniger Fremdprotein als bei den unbehandelten Kontrolltieren.

In einem interessanten Zusatztest konnten ANDRÉ et al. zeigen, daß das veränderte Resorptionsverhalten von einem Tier zum anderen "übertragbar" ist. Sie vermischten die Testdosis von Humanserumalbumin in einem Fall mit den abgeschabten Bestandteilen der Darmschleimhaut von normalen Tieren, im anderen Fall mit denen von oral immunisierten Tieren. Zwei Gruppen von bis dato unbehandelten Ratten bekamen jeweils eines der Gemische oral appliziert und es wurde wie oben beschrieben die Konzentration von Humanserumalbumin im Mesenterialvenenblut bestimmt. Dabei zeigte sich, daß die Konzentration des Fremdproteins bei den Tieren, die Schleimhautabschilferungen immunisierter Tiere erhalten hatten, im Vergleich zur Kontrollgruppe um 35 % niedriger lag. Nach ANDRÉ et al. folgt daraus, daß es die bereits vor der Verfütterung gebildeten Antigen-Antikörper-Komplexe sind, die eine Resorption des Fremdproteins beeinträchtigen.

Auch in den eigenen Untersuchungen (101, 102) hat sich der Zusammenhang zwischen Immunitätslage und Resorptionsleistung gezeigt. Wie sich herausstellte, ist nicht

nur nach oraler, sondern auch nach parenteraler Immunisierung die Aufnahme des entsprechenden Fremdproteins aus dem Darm im Vergleich zu Kontrolltieren vermindert. Unterscheidet man bei dem Begriff Resorption zwischen dem, was als intaktes Fremdprotein aus dem Darmlumen aufgenommen wird und im Blut nachweisbar ist, und dem, was insgesamt - sei es als intaktes Protein oder sei es als enzymatisch gespaltenes Bruchstück des Fremdproteins - aus dem Darm aufgenommen wird, ist eine noch detailliertere Aussage über die Beziehung zwischen Immunitätslage und Resorptionsleistung möglich.

In dieser Unterscheidung des Resorptionsbegriffes geht die vorliegende Untersuchung über den methodischen Ansatz der zitierten Arbeiten von WALKER et al. (125) und ANDRÉ et al. (2) hinaus. Obwohl bei den parenteral immunisierten Kaninchen nicht signifikant weniger großmolekulares Fremdprotein im Serum nachweisbar war als bei den unbehandelten Kontrolltieren (siehe Tab. 13, S. 48), unterscheidet sich doch die gesamte Resorptionsleistung der beiden Gruppen, wie aus Tab. 12 (S. 45) hervorgeht.

Die Tatsache, daß sich nach parenteraler Immunisierung die Resorption von großmolekularem Fremdprotein wenig ändert, deckt sich mit den Befunden von WALKER et al. (126), die ebenfalls nach parenteraler Immunisierung mit der everted-sac-Methode eine geringere Behinderung der Proteinresorption gefunden haben als nach oraler Immunisierung.

Die besondere Bedeutung der lokalen Auseinandersetzung mit dem oral zugeführten Fremdprotein bezüglich der Resorptionsleistung wird noch deutlicher, wenn man das Resorptionsverhalten der Kaninchen untersucht, mit denen eine orale Desensibilisierung versucht wurde. Bei diesen Tieren liegt die Menge des resorbierten großmolekularen Fremdproteins signifikant höher als bei den unbehandelten Tieren. Es ist denkbar, daß durch die massive orale Zufuhr von Fremdprotein ein Zustand lokaler Immunparalyse induziert wurde, der - wie im folgenden diskutiert wird - offensichtlich die Aufnahme großmolekularen Fremdproteins wesentlich erleichtert.

Ein gewichtiger Hinweis darauf, daß es die lokale Auseinandersetzung mit dem Fremdprotein ist, die das Resorptionsverhalten modifiziert, ergibt sich aus den Resorptionsstudien mit den Ratten. Nach den bisher diskutierten Ergebnissen auch anderer Untersuchungen liegt die gesamte Resorptionsrate immunisierter Ratten niedriger als bei unbehandelten Tieren. Konsequenterweise müßte dann der Zustand der Immunparalyse die Resorption des spezifischen Fremdproteins erleichtern. Die in Tab. 14 (S. 51) und auf S. 52 aufgeführten Ergebnisse sprechen eindeutig dafür, daß nach oraler Antigenapplikation im Darm immunologische Verhältnisse geschaffen werden, die spezifisch die Proteinresorption beeinflussen; nach oraler Immunisierung im Sinne einer

Erschwerung, nach oraler Toleranzinduktion im Sinne einer Erleichterung.

In scheinbarem Widerspruch zu der These, daß sich Immunisierung negativ auf die spezifische Proteinresorption auswirkt, stehen die Befunde von BOCKMANN und WINBORN (14), die licht- und elektronenmikroskopisch die Aufnahme von Ferritin bei sensibilisierten und nichtsensibilisierten Hamstern untersucht haben. Sie fanden dabei eine Anreicherung des Antigens in der Darmwand sensibilisierter Tiere, woraus sie den Schluß zogen, daß Sensibilisierung die Antigenresorption fördere. Nachdem aber BOCKMANN und WINBORN nur den lokalen Befund erhoben und weder in der Lymphe noch im Serum das Vorhandensein von Fremd-Ferritin überprüft haben, ist damit eigentlich kein Beweis einer erhöhten Antigenresorption bei immunisierten Tieren erbracht. Ihr Befund kann lediglich dahingehend interpretiert werden, daß bei immunisierten Tieren nach oraler Antigenapplikation vermehrt Antigen-Antikörper-Komplexe in der Darmwand nachweisbar sind.

Somit ist es trotz des abweichenden Ergebnisses von BOCKMANN und WINBORN gerechtfertigt, die oben aufgestellte These vom Zusammenhang zwischen Immunitätslage und Resorptionsverhalten aufrecht zu erhalten. Die entscheidende Rolle scheint dabei das sekretorische IgA zu spielen, das nicht nur den Hauptanteil der im Darm

nachweisbaren Immunglobuline ausmacht (29, 31, 39, 40, 115, 116, 117, 118), sondern auch nach den Untersuchungen von BAZIN et al. (8, 10) als erste und überwiegende lokale Reaktion auf Antigene im Darm gebildet wird.

Ein indirekter Hinweis darauf, daß die lokale Immunantwort im Darm nach Antigenzufuhr vornehmlich in der Form vermehrter Produktion von sekretorischem IgA den Übertritt von großmolekularem Fremdprotein in das Blut verhindert, kommt auch aus den klinischen Beobachtungen, daß Patienten mit einem Mangel an Serum-IgA und sekretorischem IgA ungewöhnlich oft Antikörper gegen Kuhmilchproteine im Serum aufweisen (24). Die spezielle Rolle des IgA wird zusammenfassend unter 4. 3. (S. 63) diskutiert.

4. 2. Modell zur Erklärung der Resorption großmolekularen Fremdproteins

Da nach der bisherigen Diskussion die Annahme, daß die spezifische Resorptionsleistung des Darmes von der Immunlage in der beschriebenen Weise abhängt, als wahrscheinlich betrachtet werden kann, erhebt sich die Frage, wie die Resorption großmolekularen Fremdproteins zu erklären und worin die Abhängigkeit des Resorptionsmechanismus von der Immunlage zu sehen ist. Besonders ausführlich wurde der Resorptionsmechanismus

von IgG bei Kaninchen durch BRAMBELL (17, 18) und bei Ratten durch JONES und WALDMANN (74) untersucht. BRAMBELL beschäftigte sich mit der Übertragung der Immunität vom Muttertier auf das Junge, die beim Kaninchen durch den Dottersack hindurch stattfindet. Nach seinen Ergebnissen ist die Übertragung selektiv, d.h. daß bevorzugt IgG transportiert wird und zwar in erster Linie arteigenes. Eine besondere Rolle bei diesem Vorgang spielt das sog. Fc-Fragment, das die konstanten Regionen der H-Ketten enthält. Da der Übertragungsvorgang im Sinne einer kompetitiven Hemmung durch artfremdes IgG beeinflussbar ist, kam BRAMBELL zu dem Schluß, daß das übertragene Protein an spezifische Rezeptoren gebunden ist, die an der Wand von Resorptionsvakuolen sitzen und durch die spezifische Bindung das Protein dem Zugriff proteolytischer Enzyme entziehen.

Die experimentelle Verifizierung der Rezeptortheorie von BRAMBELL brachten JONES und WALDMANN (74) mit ihren Untersuchungen über die Resorption von verschiedenartigem IgG bei neugeborenen Katten. Sie applizierten den Katten intraduodenal radiojodmarkiertes IgG verschiedener Species (Ratte, Maus, Kaninchen, Mensch), dazu noch IgA, IgM, IgD, Albumin, Transferrin und Coeruloplasmin. Lediglich IgG wurde von der Darmwand in nennenswerten Mengen aufgenommen. Bei der fraktio-

nierten Zentrifugation von Darmepithelien stellte sich heraus, daß das markierte IgG nicht in der 7 S-Fraktion, auch nicht im Zellplasma, sondern in der Zellmembranfraktion zu finden war; im Blut erschien es allerdings wieder in der 7 S-Fraktion. Für Proteine, die nicht der IgG-Klasse angehören, ließ sich dieses Verhalten nicht nachweisen. Auch JONES und WALDMANN konnten beobachten, daß Aufnahme und Transport von markiertem IgG durch Gabe von unmarkiertem IgG, nicht aber durch Gabe anderer Serumproteine kompetitiv hemmbar ist. Die spezifische Bindung von IgG an Membranen der Mikrovilli von Darmepithelien konnte auch in vitro nachgewiesen werden.

Diesen beiden bisher diskutierten Resorptionsmechanismen von intaktem IgG liegt die Vorstellung zu Grunde, daß die Aufnahme aus dem Darmlumen in die Zellen durch Pinozytose stattfindet, da ja die bislang elektronenmikroskopisch gesicherten Poren in der Zellmembran in keinem Verhältnis zur Größe der in Diskussion stehenden Proteine sind (11). Der Vorgang der Pinozytose scheint kein spezifischer Prozeß zu sein, da nach den Untersuchungen von VOLKHEIMER et al. (121, 122) selbst so unphysiologisches Material wie Metallpartikel durch Pinozytose oder - wie sie es nennen - Persorption aufgenommen wird.

Von einigen Forschern wird die Frage diskutiert, ob großmolekulare Substanzen nicht vielleicht durch inter-

zelluläre Spalten direkt in die Lymphbahn gelangen (4, 68, 136), wobei Lymphozyten, ausgestattet mit Gamma-Globulinrezeptoren (30, 73), eine Vehikelfunktion übernehmen (34, 58). Ob dieser Resorptionsmechanismus für normale physiologische Verhältnisse zutrifft, muß bezweifelt werden, da in einem Fall (4) die Untersuchung an einem zöliakiegeschädigten Jejunum und in einem anderen Fall (136) bei Ratten nach Proteinmangelernährung durchgeführt wurde. Die in einer Weiterentwicklung der Vorstellungen von BRAMBELL entworfene Theorie der Rezeptorstrukturen speziell für IgG, wie sie JONES und WALDMANN (74) postuliert haben, scheint den normalen physiologischen Bedingungen adäquater zu sein, wenn sie sich auch nur auf die Befunde bei neugeborenen Tieren stützt. Da aber die Fähigkeit zur intakten Proteinresorption nach der Neugeborenenperiode nicht einfach erlischt, sondern viel wahrscheinlicher nur quantitativ zurückgeht, kann man annehmen, daß der speziell für IgG bei neugeborenen Kaninchen und Ratten diskutierte Resorptionsmechanismus grundsätzlich auch für die erwachsenen Tiere, mit denen wir unsere Untersuchungen durchgeführt haben, zutrifft. Aufgrund der diskutierten Beziehung zwischen Immunitätslage und Resorptionsleistung liegt die Vermutung nahe, daß der Resorptionsmechanismus im Laufe der immunologischen Reifung eines Tieres keine grundsätzliche Änderung, eventuell eine Modifikation erfährt.

Die Frage, ob es bei der Resorption anderer Fremdproteine Äquivalente zu den hier angenommenen IgG-spezifischen Rezeptorstrukturen gibt, muß hier offen bleiben.

4. 3. Rolle des sekretorischen IgA für die Resorption

Wie ist der Zusammenhang zwischen Immunitätslage und Resorptionsleistung erklärbar? Nach einer Reihe von Untersuchungen steht fest, daß die Immunantwort je nach Art der Immunisierung - ob oral oder parenteral - beträchtliche Unterschiede aufweist (8, 9, 31, 32, 39, 40). Während nach parenteraler Immunisierung die Erstantwort in einer vermehrten Produktion von IgM besteht, der der Anstieg von IgG folgt, spielt nach oraler Immunisierung sekretorisches IgA die bedeutendste Rolle. Die davon abweichenden Befunde von STRANNEGÅRD und YURCHISON (111) scheinen eher in der gewählten Nachweismethode von Antikörpern als in der Sache selbst begründet zu sein.

Auf welche Weise es nach der lokalen Immunantwort, geprägt von der gesteigerten Produktion von IgA, bei oraler Immunisierung zu einer allgemeinen Immunantwort kommt, ob durch den Übertritt von Antigen in das Blut und damit verbundener sekundärer Stimulierung immunkompetenter Zellen oder durch das Ausschwemmen stimulierter Plasmazyten aus dem Intestinaltrakt (beide Fragen sind bei BAZIN (8) diskutiert), braucht in

diesem Zusammenhang nicht näher untersucht zu werden. Fest steht, daß die immunologische Reaktionsfähigkeit des Intestinaltraktes bezüglich der humoralen Antwort in erster Linie auf IgA basiert.

Diese Art der Lokalantwort hat ihr histologisches Substrat in der sehr großen Zahl von IgA-produzierenden Plasmazyten, die in der Intestinalschleimhaut zu finden sind (31, 39).

Das sekretorische IgA unterscheidet sich vom Serum-IgA sowohl durch das höhere Molekulargewicht (11 S gegenüber 7 S) als auch durch die sterische Struktur (107, 117); sekretorisches IgA ist nämlich dimer, wobei eine sogenannte J-Komponente (joining component) dafür verantwortlich zu sein scheint (27, 63, 92). Ein weiterer Unterschied besteht im zusätzlichen Vorhandensein des sekretorischen Stückes (12, 103, 133), das auch isoliert nachgewiesen werden konnte (43).

Auch bezüglich der Funktion verhält sich sekretorisches IgA anders als Serum-IgA; nach den Untersuchungen von BULL (25), SHEARMAN (103) und TOMASI (116, 117) übt das sekretorische IgA eine spezielle Schutzfunktion für Schleimhäute gegen Viren, Bakterien und auch Fremdproteine aus, wozu wahrscheinlich die dimere Struktur besonders vorteilhaft ist. BROWN (22) entdeckte, daß die sekretorische Komponente des IgA beim intra- und transzellulären Transport von dimerem IgA eine wichtige Rolle spielt. Weiterhin ist sekretorisches IgA

vermutlich durch das sekretorische Stück in besonderem Maße Proteinasen gegenüber resistent (21, 81, 103, 133). Speziell in der Schutzfunktion des sekretorischen IgA für Schleimhäute scheint die Erklärung dafür zu liegen, daß zwischen Immunlage und Resorption der weiter oben diskutierte Zusammenhang bestehen kann. Beim Neugeborenen, dessen immunologische Reaktionsfähigkeit fehlt oder noch sehr beschränkt ist, fällt damit auch weitgehend der Schutz der Darmschleimhaut vor Fremdprotein weg mit der Konsequenz, daß vermehrt Protein intakt resorbiert werden kann (105). Ob es dann bei weiterer Proteinresorption und immunologischer Reifung des Individuums zu einer allgemeinen Immunisierung oder zu einer Toleranzinduktion kommt, steht hier nicht zur Debatte.

Eine vermehrte Produktion von sekretorischem IgA im Gefolge einer Immunisierung müßte logischerweise den Schutz der Darmschleimhaut gegen Fremdprotein erhöhen, was sich wiederum in verminderter Resorption des Fremdproteins auswirkt, wie die beschriebenen Resorptionsstudien zeigen. WALKER (127) wies auch nach, daß speziell durch die Bildung von Antigen-Antikörper-Komplexen im Darmlumen die Aufnahme von Fremdprotein vermindert wird. Weiterhin könnte man annehmen, daß im Falle der oralen Induktion einer spezifischen Reaktionslosigkeit (unresponsiveness) das sekretorische IgA bezüglich des zugeführten Fremdproteins seine normale Funktion nicht ausüben kann und damit im Endeffekt ein

Zustand erreicht ist, der hinsichtlich der spezifischen Proteinresorption dem des immunologisch nicht ausgereiften Organismus vergleichbar ist und somit eine vermehrte Fremdproteinaufnahme ermöglicht.

Soweit immunologische Vorgänge bei der Proteinresorption eine Rolle spielen, könnte der hier vorgeschlagene Mechanismus die erhobenen Resorptionsbefunde erklären. Die Tatsache, daß auch noch andere Faktoren auf die Fremdproteinresorption einwirken, wird damit nicht in Zweifel gezogen. So könnten beispielsweise eine durch die Proteinzufuhr bedingte Induktion spezifischer Proteasen (10) oder eine Änderung der Darmmotilität durch gebildete Antigen-Antikörperkomplexe, wie sie in vitro am Meerschweinchenileum nachgewiesen werden konnte (93), eine Rolle spielen. Auch die Interaktion verschiedener Proteine bezüglich der Degradierung im Sinne einer kompetitiven Hemmung oder Potenzierung, wie sie von FERENČÍK und ŠTEFANOVIČ (48) beschrieben wurde, sollte in Betracht gezogen werden. Eine zusammenfassende Diskussion verschiedener Faktoren findet sich bei WALKER (123, 124).

4. 4. Orale Toleranzinduktion

Zunächst einige terminologische Vorbemerkungen. Neuerdings verwendet man den Begriff Toleranz zur Kennzeichnung eines Zustandes einer spezifischen immunologischen

Reaktionslosigkeit auf einen Antigenstimulus, der in normalen Tieren von einer erkennbaren und meßbaren Immunantwort gefolgt wäre (64, 80). In der klassischen Definition der Toleranz von MEBAWAR (86) war dieser Begriff der Tolerierung artfremder Transplantate vorbehalten, während das Ausbleiben einer Immunisierung nach Antigenapplikation als Paralyse (42, 47), protein overloading (38) oder als unresponsiveness (28) bezeichnet wurde.

Der immunologische Zustand der Tiere, über die hier berichtet wird, entspricht wohl am ehesten einer Immunparalyse, doch in Angleichung an den inzwischen allgemein üblichen Sprachgebrauch wird auch der Begriff Toleranz verwendet.

Die Möglichkeit der Toleranzinduktion durch parenterale Applikation eines Antigens ist durch viele Untersuchungen erwiesen (u.a. 42, 43, 44, 45, 46, 59).

Daß die orale Verabreichung großmolekularer Substanzen zur Immunisierung des Organismus führen kann, steht sowohl aufgrund klinischer Beobachtungen (z.B. Nahrungsmittelallergien) als auch aufgrund experimenteller Befunde fest (31, 98). Doch muß der Antigenstimulation via Gastrointestinaltrakt nicht notgedrungen die Immunisierung folgen. Die ersten diesbezüglichen Beobachtungen sind von CHASE (28) berichtet, der zeigte, daß die orale Verabreichung von Dinitrochlorbenzol in Olivenöl eine Sensibilisierung durch wiederholte intra-

kutane Injektion dieses Antigens verhindert. Weiterhin konnten BATTISTO und MILLER (7) durch Injektion einer kleinen Menge eines Haptens (Picrylchlorid) und von Rinder-Gammaglobulin in die Mesenterialvene erwachsener Meerschweinchen verhindern, daß diese Tiere bei der später versuchten Sensibilisierung eine humorale oder zelluläre Immunantwort gaben. Auch FILIPP und BOROS (50) berichten über orale Toleranzinduktion bei Kaninchen, die allerdings thymektomiert waren. 1974 gelang es THOMAS und PARROT (113), auf oralem Weg eine gesicherte Toleranz bei Ratten gegen Rinderserumalbumin zu induzieren. Den Tieren wurden zwei Wochen lang täglich je 25 mg Rinderserumalbumin mittels einer Magensonde appliziert. 20 Tage nach Challenge mit dem Fremdprotein in komplettem Freundschens Adjuvans wurde die Immunantwort der Tiere untersucht. Dabei zeigte sich, daß weder zirkulierende Antikörper noch Antikörper-produzierende Zellen in der Milz, den mesenterialen Lymphknoten und in der Lamina propria nachweisbar waren.

Nach der gleichen Methode wurde in den eigenen Untersuchungen die Toleranzinduktion bei Ratten mit Pferde-IgG durchgeführt. Auch hier waren nach Antigenbelastung weder präzipitierende noch hämagglutinierende Antikörper nachweisbar. Leider konnte die Suche nach Antikörper-produzierenden Zellen in den entsprechenden Geweben nicht durchgeführt werden.

Das Fehlen Antikörper-produzierender Zellen deutet

darauf hin, daß die beobachtete Reaktionslosigkeit nicht auf einer peripheren Hemmung der Immunantwort beruht, sondern zentral bedingt ist (131).

Wie ist aber zu erklären, daß orale Applikation eines Fremdproteins in einem Fall eine Immunisierung, im anderen Fall eine spezifische Reaktionslosigkeit bewirken kann?

Nach den Untersuchungen von DRESSER (42) und anderen (13, 19, 20, 21, 38, 69, 70, 72, 77, 78, 91, 135) gelingt eine Toleranzinduktion umso eher, je reiner das Antigen ist, d.h. je weniger Makroaggregate es enthält. Da angenommen werden muß, daß im Magen und Darm das zugeführte Protein zu einem großen Teil denaturiert, bzw. degradiert wird, könnten stärker immunogene Proteinbestandteile entstehen, die unter Umständen eine Lokalantwort hervorrufen; dies hat sich aber in den Untersuchungen von THOMAS und FARROT (113) nicht bestätigt.

Selbst wenn aber immunogenes Material nach der Resorption in das Blut kommt, bedeutet das nicht zwangsläufig Immunisierung, denn es konnte gezeigt werden, daß die Leber in der Lage ist, Immunogene zu sequestrieren (26, 114) und damit selbst nach Resorption immunogenen Materials den Weg für eine Toleranzinduktion noch freizuhalten.

Es liegt die Vermutung nahe, daß die Menge der appli-

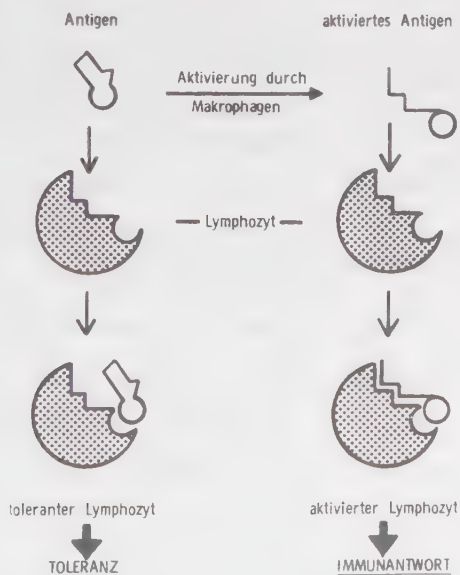
zierten Dosis darüber entscheidet, ob es zur Immunisierung oder zur Toleranzinduktion kommt (43, 44, 87, 88). 200 mg Humanserumalbumin in einer einmaligen Dosis führen nach den Ergebnissen von ANDRÉ (2) bei Ratten zur allgemeinen Immunisierung, 25 mg Pferde-IgG oder Rinderserumalbumin als Tagesdosis über einen längeren Zeitraum hinweg bewirkt Toleranz.

Nach den Vorstellungen von MITCHISON (87, 88) und SINCLAIR (104) wird das immunologische Verhalten des Organismus von der Relation Antigen zu Antikörper bestimmt. Relativer Antigenüberschuß würde Toleranz bedeuten, entweder in der low zone oder in der high zone, Antikörperüberschuß dagegen Immunantwort. Was letztlich darüber entscheidet, daß eher Paralyse als Stimulation einer immunkompetenten Zelle auftritt, ist unbekannt. Mit Sicherheit spielt die Immunogenizität des Antigens eine Rolle, ob es in freier Lösung vorkommt und ob es mit Makrophagen Kontakt aufnimmt. Nach FISHMAN (52) spielen die Makrophagen eine bedeutende Mittlerrolle bei der Initiation einer Immunantwort, indem sie das Antigen in eine aktivierte Form bringen, die von ASKONAS (3) "super antigen" genannt wird. Dieses "super antigen" seinerseits soll die immunkompetenten Zellen zur Antwort stimulieren. Fehlt die Aktivierung durch die Makrophagen, werden nach der Theorie von FISHMAN durch das Antigen Rezeptorstellen an den immunkompetenten Zellen besetzt, ohne daß es zur Sti-

mulation mit nachfolgender Immunantwort kommt. Die Konsequenz wäre also Toleranzinduktion. Die Abb. 7 (in Anlehnung an FISHMAN (51)) versucht, diesen Vorgang schematisch darzustellen. Es wird deutlich, welche Schlüsselposition die Makrophagen haben; denn von ihnen hängt es ab, ob im Falle der Aktivierung des Antigens der Weg der Stimulation immunkompetenter Zellen eingeschlagen wird oder ob bei Nichtaktivierung das Antigen zwar Rezeptoren an der immunkompetenten Zelle belegt, aber gewissermaßen wegen der mangelnden Formanpassung für die Zelle nicht als Stimulation wirkt.

Abb. 7:

Rolle der Makro-
phagen bei der
Induktion einer
Immunantwort



Auch nach McCULLAGH (85) hängt es von der Menge stimulierter Lymphozyten ab, ob nach Antigenexposition Toleranz oder Immunisierung eines Tieres eintritt.

Mit diesem Mechanismus ließe sich die Dosisabhängig-

keit von Toleranzinduktion bzw. Immunisierung hinreichend erklären. Je größer das Angebot an Antigen ist, umso höher wird auch die Wahrscheinlichkeit, daß Antigen und Makrophagen in Interaktion treten und über die Stimulation von Lymphozyten den Prozeß in Gang bringen, der letztlich zur Immunantwort führt.

4. 5. Zur Frage der Desensibilisierung

Die Möglichkeit der oralen Toleranzinduktion scheint hinreichend gesichert; wie verhält sich aber ein Organismus, der bereits immunisiert ist und dem weiterhin oral das Antigen zugeführt wird? Laßt sich damit eine sogenannte Desensibilisierung erreichen?

Da das Problem der Desensibilisierung von eminenter klinischer Bedeutung ist, ist es verständlich, daß in der diesbezüglichen Literatur hauptsächlich von klinischen Erfahrungen und klinisch anwendbaren Methoden die Rede ist. Eine Übersicht über die Möglichkeiten der aktiven und passiven Desensibilisierung findet sich bei SWINEFORD (112). Das allgemein übliche Verfahren der aktiven Desensibilisierung ist die Injektion langsam ansteigender Dosen des Antigens (33, 41, 138). Die klinisch meßbare Erfolgsquote liegt in einem Bereich von 50-80 %.

In neuerer Zeit wurden aber auch Versuche mit der peroralen Desensibilisierung von Inhalationsallergien (76),

Asthma bronchiale (137) und Akne vulgaris (110) durchgeführt, wobei der klinische Erfolg nicht schlechter war als bei der Injektionsmethode.

Von WÜTHRICH und STORCK (138) werden vier mögliche Mechanismen zur Diskussion gestellt, die der Desensibilisierung zugrunde liegen könnten:

1. Hemmung der Antikörperproduktion im RES durch das zugeführte Antigen.
2. Verbrauch der für die allergischen Erscheinungen verantwortlichen Antikörper bzw. Absättigung zellständiger Antikörper.
3. Produktion zirkulierender Antikörper, die das Allergen durch eine humorale Reaktion binden und so die Reaktion mit zellständigen Antikörpern verhindern.
4. Unspezifische Mechanismen, z.B. Aktivierung der Nebennierenrinde, Nachlassen der Organempfindlichkeit gegenüber den bei der Antigen-Antikörper-Reaktion freigesetzten Substanzen.

Die beiden erstgenannten Möglichkeiten würden bedeuten, daß sich aufgrund des Überangebotes von Antigen auch die Gedächtniszellen des immunisierten Organismus in kurzlebige Antikörper-produzierende Plasmazellen differenzieren und so im Sinne der von ŠTERZL (109) geforderten "terminal exhaustive differentiation" die Antikörperproduktion zum Stillstand kommt. Dem steht allerdings entgegen, daß bei den klinischen Desensibilisierungen zu geringe Mengen von Antigen appliziert

werden, um diesen Mechanismus in Gang zu setzen. Den klinischen Desensibilisierungen dürfte wahrscheinlich der unter Punkt 3 aufgeführte Mechanismus zugrunde liegen, nachdem DIEGES (36) bei Heufieberpatienten nachweisen konnte, daß mit zunehmender Desensibilisierung die Titer blockierender Antikörper anstiegen.

Es erhebt sich allerdings die Frage, ob die Befunde aus dem klinischen Bereich auf den beschriebenen Desensibilisierungsversuch mit Kaninchen übertragbar ist, denn die Art der Sensibilisierung scheint verschieden zu sein. Während bei den allergischen Erkrankungen Immunglobuline der Klasse IgE bezüglich der humoralen Immunreaktion die entscheidende Rolle spielen, war bei den Kaninchen die Immunreaktion hauptsächlich von IgG und IgM bestimmt, wie aus der Reaktion im Hauttest (Arthus-Phänomen) ersichtlich ist.

Im Gegensatz zu den Befunden von DIEGES stehen die Schlußfolgerungen, die POLAK und GELEICK (95) aus ihren Untersuchungen über Kontaktsensibilisierung von Meerschweinchen mit Dinitrochlorbenzol ziehen. Aus dem sehr raschen Eintreten der Desensibilisierung und deren kurzer Dauer nach intravenöser Injektion des Haptens schließen sie, daß es sich bei der Desensibilisierung nur um ein peripheres Geschehen handelt. Zu ähnlichen Schlußfolgerungen kommen NORN und STAHL SKOV (90), die nach der Inkubation von sensibilisierten Ratten-Mastzellen mit ansteigenden Konzentrationen

des entsprechenden Antigens eine Verminderung der Histaminfreisetzung um 70 % beobachteten. Nachdem der Versuch in vitro durchgeführt wurde, konnten dabei keine blockierenden Antikörper im Spiel sein.

Im Hinblick auf die eigenen Versuche mit der Desensibilisierung von Kaninchen durch orale Zufuhr des Antigens dürften die von ŠTEFANOVIČ et al. (108) erbrachten Befunde von Wichtigkeit sein, die nach Injektion des Kathepsin-D-degradierten Antigens eine wesentlich geringere anaphylaktische Reaktion der Tiere registrierten als nach Injektion des intakten Antigens. Außerdem rief das degradierte Antigen keine anaphylaktische Kontraktion des terminalen Ileumsegmentes in vitro hervor und verhinderte die Kontraktion nach Zugabe des intakten Antigens. Vielleicht ist mit diesem Blockadeeffekt der Antigenbruchstücke, die nach oraler Zufuhr des Antigens durch proteolytische Spaltung entstehen, die teilweise Desensibilisierung der Kaninchen erklärbar.

Es sollte jedoch auch die andere Möglichkeit nicht völlig ausgeschlossen werden, daß nämlich durch die massive Antigenzufuhr das Verhältnis zwischen Antikörper und Antigen zu Gunsten von letzterem verschoben wurde und damit die immunologische Reaktionslage der Kaninchen in den Grenzbereich zwischen Immunantwort und high-zone Toleranz geraten ist.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Gegenstand der vorliegenden Untersuchung waren zwei Fragen:

1. Wie beeinflußt die spezifische Immunlage die Resorption von Pferde-IgG bei Kaninchen und Ratten?
2. Ist es möglich, auf oralem Weg eine spezifische immunologische Reaktionslosigkeit zu induzieren und eine bestehende Sensibilisierung durch orale Zufuhr des entsprechenden Antigens zu reduzieren oder sogar aufzuheben.

Die Versuche wurden mit Ratten und Kaninchen durchgeführt. Als Antigen wurde Pferde-IgG verwendet.

Zu 1: Die Resorptionsstudien führten zu folgenden Ergebnissen:

- a) Parenteral immunisierte Kaninchen resorbieren insgesamt weniger 131 -Jod-markiertes Pferde-IgG als unbehandelte Kontrolltiere (82,3% der applizierten Gesamtmenge bei den immunisierten Tieren gegenüber 87,8 % bei den Kontrolltieren; $p < 0,05$)
- b) Ratten mit abgeschwächter und fehlender Immunantwort auf Antigenstimulation resorbieren mehr als katten mit ausgeprägter Immunantwort (80, 1 % und 84,9 % gegenüber 69,5 %; $p < 0,025$ bzw. $p < 0,01$)

- c) Bei Kaninchen, mit denen eine perorale Desensibilisierung versucht wurde, waren mehr großmolekulare Bestandteile des Fremdproteins im Blut nachweisbar als bei den unbehandelten und sensibilisierten Tieren ohne Desensibilisierungsbehandlung (7,4 % gegenüber 5,2 % und 5,9 %; $p < 0,025$).
- d) Bei Ratten mit oraler Toleranzinduktion sind nach der Resorption von markiertem Fremdprotein 86,5 % der im Blut nachweisbaren Radioaktivität noch an großmolekulares Fremdprotein gebunden gegenüber 3,5 % bei immunisierten Ratten.

Zu 2: a) Die tägliche orale Zufuhr von 25 mg Pferde-IgG über zwei Wochen hin bewirkte bei Ratten, daß sie im Gegensatz zu unbehandelten Kontrolltieren auf Challenge mit Pferde-IgG in komplettem Freundeschem Adjuvans mit keiner erkennbaren Immunantwort reagierten. Bei den Kontrolltieren waren Titerstufen ($\log_2$) von 6,4 in der aktiven und 9,0 in der passiven Hämagglutination nachweisbar.

- b) Der Versuch, die gegen Pferde-IgG gerichtete Sensibilisierung bei Kaninchen durch die orale Zufuhr steigender Dosen dieses Fremdproteins rückgängig zu machen, gelang nicht völlig.

Es ließ sich aber eine Senkung der Hämagglutinationstiter um durchschnittlich zwei Titerstufen und eine verminderte Reaktion im Hauttest erreichen (von 1:100 auf 1:10).

6. LITERATURVERZEICHNIS

1. ADLER, F.L.: Competition of antigens.
Prog. Allergy 8, 41 (1964)
2. ANDRĚ, C.,
LAMBERT, R.,
BAZIN, H., and
J.F. HEREMANS: Interference of oral immuni-
zation with the intestinal ab-
sorption of heterologous albumin.
Eur. J. Immunol. 4, 701 (1974)
3. ASKONAS, B.A., and
J.M. RHODES: Immunogenicity of antigen-con-
taining ribonucleic acid pre-
parations from macrophages.
Nature 205, 470 (1965)
4. ASQUITH, P.: Immunology.
Clinics in Gastroenterology 3,
213 (1974)
5. BACHMANN, K., and
S.S. DEES: Milk allergy I. Observations on
incidence and symptoms in
"well" babies.
Pediatrics 20, 393 (1957)
6. BARRICK, R.H., and
R.S. FARR: The increased incidence of cir-
culating anti-beef albumin in
the sera of allergic persons
and some comments regarding the
possible significance of this
occurrence.
J. Allergy 36, 374 (1965)
7. BATTISTO, J.k., and
J. MILLER: Immunological unresponsiveness
produced in adult guinea pigs
by parenteral introduction of
minute quantities of hapten or
protein antigen.
Proc. Soc. exp. Biol. 111, 111 (1962)

8. BAZIN, H.,
ANDRÉ, C., and
J.F. HEREMANS: Revue générale. Réponses immuno-
logiques induites par voie orale.
Ann. Immunol. 124 C, 253 (1973)
9. BAZIN, H.: L'immunité intestinale.
Path. Biol. 18, 1101 (1970)
10. BAZIN, H.,
LEVI, G., and
G. DORIA: Predominant contribution of IgA
antibody-forming cells to an
immune response detected in
extra-intestinal lymphoid tissues
of germ-free mice exposed to
antigen by the oral route.
J. Immunol. 105, 1049 (1970)
11. BERNSTEIN, I.D., and Absorption of antigens from the
Z. OVARY: gastrointestinal tracts.
Int. Arch. Allergy, Appl. Immunol.
33, 521 (1969)
12. BIENENSTOCK, J.: The local immune response.
Am. J. Vet. Res. 36, 488 (1975)
13. BOAK, J.L.,
KOELSCH, E., and
N.A. MITCHISON: Immunological tolerance and
inhibition by haptens.
Antibiot. Chemotherapy 15,
98, (1969)
14. BOCKMANN, D., and Light and electron microscopy
W.B. WINBORN: of intestinal ferritin absorption
Observations in sensitized and
non sensitized hamsters.
Anat. Rec. 155, 603 (1969)

15. BORGSTRÖM, B.,
DAHLQUIST, A.,
LUNDH, G., and
J. SJOVALL: Studies of intestinal digestion
and absorption in the human.
J. Clin. Invest. 36, 1521 (1957)
16. BOYDEN, S.V.: Absorption of protein on erythro-
cytes treated with tannic acid
and subsequent hemagglutination
by anti-protein sera.
J. exp. Med. 92, 107 (1951)
17. BRAMBELL, F.W.R.: The transmission of immunity
from mother to young and the
catabolism of immunoglobulins.
Lancet II, 1087 (1966)
18. BRAMBELL, F.W.R.: The passive immunity of the
young animal mammal.
Biol. Rev. 32, 488 (1958)
19. BRENDEN, W.,
LAND, W.,
HOFF, U., and
J. SEIFERT: Induction of tolerance in man
to horse IgG.
Lancet II, 1141 (1969)
20. BRENT, L.: Tolerance and enhancement in
organ transplantation.
Transplant. Proc. 4, 363 (1972)
21. BROWN, R.W.,
NEWCOMB, R.W., and
K. ISHIZAKA: Proteolytic degradation of
exocrine and serum immunoglob-
ulins.
J. clin. Invest. 49, 1374 (1970)

22. BROWN, W.R.,
ISOBE, Y., and
P.K. NAKANE: Ultrastructural localization
of IgA and secretory component
(SC) in human intestinal mucosa
by immunoperoxidase techniques.
Gastroenterology 68, 869 (1975)
23. BUCHS, S.: Das ungelöste Problem der Eiweiß-
spaltung im Magen.
Dtsch. med. Wschr. 98, 1372 (1973)
24. BUCKLEY, R.H., and
S.C. DEES: Correlation of milk precipitins
with IgA deficiency.
New Engl. J. Med. 281, 465 (1969)
25. BULL, D.M., and
T.B.Jr. TOMASI: Deficiency of immunoglobulin A
in intestinal disease.
Gastroenterology 54, 313 (1968)
26. CANTOR, H.M., and
A.E. DUMONT: Hepatic suppression of sensitization
to antigen absorbed into
the portal system.
Nature 215, 744 (1967)
27. CEBRA, J.J., and
P.A.Jr. SMALL: Polypeptide chain structure of
rabbit immunoglobulin.
3. Secretory gamma-A-immunoglobulin
from colostrum.
Biochemistry 6, 503 (1967)
28. CHASE, M.W.: Inhibition of experimental drug
allergy by prior feeding of the
sensitizing agent.
Proc. Soc. exp. Biol. and Med.
61, 257 (1946)

29. COLLINS, F.M.: Immunity to enteric infection in mice.
Infect. Immunity 1, 243 (1970)
30. COOPER, G.N., and K. TURNER: Immunological responses in rats following antigenic stimulation of Peyer's Patches.
I. Characteristics of the primary response.
Aust. J.exp. Biol. Med. Sci. 45, 363 (1967)
31. CRABBÉ, P.A., NASH, D.R., BAZIN, H., EYSEN, H., and J.F. HEREMANS: Antibodies of the IgA type in intestinal plasma cells of germ-free mice after oral or parenteral immunization with ferritin.
J. exp. Med. 130, 723 (1969)
32. CRABBÉ, P.A., and J.F. HEREMANS: The significance of local IgA in the physiology of the intestinal mucosa.
Folia med. neerl. 12, 100 (1969)
33. DAO, C., ZITOUN, R., and J. BOUSSER: Une technique de "désensibilisation" en cas d'anaphylaxie à l'asparaginase dans la leucémie aiguë.
La Nouvelle Presse méd. 16, 1073 (1973)
34. DARLINGTON, D., and A.W. ROGERS: Epithelial lymphocytes in the small intestine of the mouse.
J. Anat. (London) 100, 813 (1966)

35. DAWSON, R., The digestion and absorption
 HOLDSWORTH, E., and of protein in the rat.
 J.W.G. PORTER: In: The role of gastrointestinal
 tract in protein metabolism.
 Ed.: H.N. MUNRO, Blackwell
 Oxford, 198 (1964)
36. DIEGES, P.H.: A method for demonstration of
 blocking antibodies in desensi-
 tized hay fever patients.
 Acta Allergol. 27, 179 (1972)
37. DIENER, W., and Induction of antibody formation
 W.D. ARMSTRONG: and tolerance in vitro to a
 purified protein antigen.
 Lancet II, 1281 (1967)
38. DIXON, F.J., and Immunological unresponsiveness
 H.P. MAURER: induced by protein antigens.
 J. exp. Med. 101, 245 (1955)
39. DOLEZEL, J., and Immune response of the hamster
 J. BIENENSTOCK: to oral and parenteral immuni-
 zation.
 Cell. Immunol. 2, 326 (1971)
40. DOLEZEL, J., and γA and non γA immune response
 J. BIENENSTOCK: after oral and parenteral immuni-
 zation of the hamster.
 Cell. Immunol. 2, 458 (1971)
41. DOMART, A., Endocardite d'Osler chez un
 WOLFROMM, R., sujet sensibilisé à la pénici-
 HAZARD, J., and cilline; technique de désensi-
 J.C. HESSE: bilisation.
 Bull. Mem. Soc. Med. Hôp. Paris
 75, 351 (1959)

42. DRESSER, D.W.; and N.A. MITCHISON: The mechanism of immunological paralysis.
Advances in Immunol. 8, 129 (1966)
43. DRESSER, D.W.: Specific inhibition of antibody production. I. Protein-over-loading paralysis.
Immunology 5, 161 (1962)
44. DRESSER, D.W.: Specific inhibition of antibody production. II. Paralysis induced in adult mice by small quantities of protein antigens.
Immunology 5, 378 (1962)
45. EMMERLING, P., und H. FINGER: Antikörper-induzierte Immunsuppression nach minimaler antigener Stimulierung.
Z. Immun. Forsch. 145, 95 (1973)
46. FELDMANN, M., and E. DIENER: Antibody-mediated suppression of the immune response in vitro.
J. Exp. Med. 131, 247 (1970)
47. FELTON, L.D.: The significance of antigen in animal tissues.
J. Immunology 61, 107 (1949)
48. FERENČÍK, F., and J. ŠTEFANOVIČ: The interaction of protein substrates (antigens) during an in vitro degradation by rabbit cathepsin D.
Fol. Microbiol. 18, 402 (1973)
49. FERGUSON, A.: Immunological roles of the gastrointestinal tract.
Scot. med. J. 17, 111 (1972)

50. FILIPP, G., and B.V. BOROS: The induction of immunological tolerance by antigen feeding. The effect of thymectomy on orally induced tolerance. J. Allergy 39, 167 (1967)
51. FISHMAN, M.: Antibody formation in vitro. J. Exp. Med. 114, 837 (1961)
52. FISHMAN, M., and F.L. ADLER: Antibody formation initiated in vitro. II. Antibody synthesis in X-irradiated recipients of diffusion chambers containing nucleic acid derived from macrophages incubated with antigen. J. Exp. Med. 117, 595 (1963)
53. FRANKS, J.J., TAKEDA, V., and E.B. REEVE: Preparation of autologous J-131-albumin for metabolic studies in man. J. lab. clin. Med. 60, 619 (1962)
54. FRETER, R.: Detection of coproantibodies and its formation after parenteral and oral immunization of human volunteers. J. infect. Dis. 111, 37 (1962)
55. GANGHOFER, B., and J. LANGER: Über die Resorption genuiner Eiweißkörper im Magendarmkanal neugeborener Tiere und Säuglinge. Münchn. med. Wschr. 51, 1497 (1904)
56. GAUER, O.H., KRAMER, K., and R. JUNG: Physiologie des Menschen. Bd. 8 "Ernährung, Verdauung, Intermediärstoffwechsel" Urban & Schwarzenberg, München-Berlin-Wien, (1972)

57. GITTler, C.: Protein digestion and absorption in non-ruminants.
In: Mammalia protein metabolism.
Ed.: MUNRO, H.N., and J.B. ALLISON
Acad. Press, New York, 212 (1964)
58. GRAU, H.: Zur Bedeutung der subepithelialen Lymphstrukturen.
Tierärztl. Umschau 7, 328 (1972)
59. GÖING, H.,
MÖNCH, R., und
P. KAISER: Immuntoleranz und Antigen-bedingte Hemmung der Antikörperbildung.
Z. Immun. Forsch. 145, 117 (1973)
60. HAIDENHAIN, R.: Neue Versuche über die Aufsaugung im Dünndarm.
Pflüg. Arch. Physiol. 56, 579 (1893)
61. HALLIDAY, R.: The termination of the capacity of young rats to absorb antibodies from the milk.
Proc. Roy. Soc. B. 145, 179 (1956)
62. HALLIDAY, R.: The absorption of antibodies from immune sera and from mixtures of sera by the gut of young rats.
Proc. Roy. Soc. B. 148, 92 (1957)
63. HALPERN, M.S., and M.E. KOSHLAND: Novel sub-unit in secretory IgA.
Nature (London) 228, 1276 (1970)
64. HAŠEK, M.,
LENGEROVÁ, A., and
M. VOJTIŠKOVÁ: Mechanisms of immunological tolerance.
Acad. Press, New York (1962)
65. HEMMINGS, W.A.,
JONES, R.E., and
E.W. WILLIAMS: Transmission of IgA to the rabbit foetus and the suckling rat.
Immunology 25, 645 (1973)

66. HILL, K.J.: Gastric development and antibody transference in the lamb with some observations on the rat and guinea pig.
Quart. J. exp. Physiol. 41, 421 (1956)
67. HOLLAND, N.H.,
HONG, R.,
DAVIS, N.E., and
C.D. WEST: Significance of precipitating antibodies to milk protein in the serum of infants and children.
J. Pediatrics 61, 181 (1962)
68. HOLTER, H.: Pinocytosis.
Int. Rev. Cytol. 8, 481 (1959)
69. HOPF, U.: Immunologische Toleranz.
Klin. Wschr. 49, 177 (1971)
70. HOPF, U.,
LAND, W.,
SEIFERT, J.,
BRENDDEL, W., und
A. FATEH-MOGHADAM: Toleranzinduktion an erwachsenen Hunden gegenüber Pferdeimmunoglobulinfraktionen.
Eur. J. Immunol. 1, 36 (1969)
71. HOWELL, W.H.: Note upon the presence of amino acids in the blood and lymph as determined by the β -naphthalinsulfochloride reaction.
Am. J. Physiol. 17, 273 (1906)
72. HUMPHREY, J.H.: Immunological unresponsiveness to protein antigens in rabbits. I. The duration of unresponsiveness following a single injection at birth.
Immunology 7, 449 (1964)

73. JOEK, D.D.,
HESS, M.W., and
H. COTTIER: Thymic origin of lymphocytes
in developping Peyer's Patches
of newborn mice.
Nature (London) 231, 24 (1971)
74. JONES, E.A., and
T.A. WALDMANN: The mechanism of intestinal
uptake and transcellular trans-
port of IgG in the neonatal rat.
J. clin. Invest. 51, 2916 (1972)
75. KUTSCHER, F., und
J. SEEMAN: Zur Kenntniss der Verdauungs-
vorgänge im Dünndarm.
Z. Physiol. Chemie 34, 528 (1901/2)
76. LAETSCH, C., und
B. WÜTHRICH: Zur peroralen Desensibilisierung
von Inhalationsallergikern im
Kindesalter: Behandlungsergebnisse
Schweiz. med. Wschr. 103,
342 (1973)
77. LAND, W.,
SEIFERT, J.,
FATEH-MOGHADAM, A., erwachsenen Hund.
HOPF, U., und
W. BRENDEL: Induktion einer Immuntoleranz
gegen Pferdeserum IgG beim
Z. ges. exp. Med. 151, 117 (1969)
78. LAND, W.: Untersuchungen zur Induktion
einer Immuntoleranz gegen Pferde-
Gammaglobulin beim erwachsenen
Hund.
Z. Immun. Forsch. 141, 94 (1970)
79. LECCE, J.G.,
MORGAN, O.D., and
G. MATHRONE: Effect of feeding colostral and
milk components on the cessation
of intestinal absorpction of
large molecules in neonatal pigs.
J. Nutr. 84, 43 (1964)

80. LESKOWITZ, S.: Tolerance
Ann. Rev. Microbiol. 21, 157 (1967)
81. LINDH, E.: Increased resistance of immunoglobulin A dimers to proteolytic degradation after binding of secretory component.
J. Immunol. 114, 284 (1975)
82. LOEWI, O.: Über Eiweißsynthese im Tierkörper.
Arch. Exp. Path. Pharmacol. 48, 303 (1902)
83. MATTHEWS, D.M., and L. LASTER: Absorption of protein digestion products: a review.
Gut 6, 411 (1965)
84. McCAFFERY, T.M., KRAFT, S.C., and R.M. ROTHBERG: The influence of different techniques in characterizing human antibodies to cow's milk proteins.
Clin. exp. Immunol. 11, 225 (1972)
85. McCULLAGH, P.: The role of cellular interaction in differentiating between the occurrence of immunological tolerance and immunity following antigenic challenge.
Eur. J. Immunol. 4, 540 (1974)
86. MEDAWAR, P.B.: Theories of immunological tolerance
In: Cellular aspects of immunology.
Ciba Foundation, Churchill, London (1960)

87. MITCHISON, N.A.: Induction of immunological paralysis in two zones of dosage.
Proc. Roy. Soc. B. 161, 275 (1964)
88. MITCHISON, N.A.: Immunological paralysis as a dosage phenomenon.
In: Regulation of the antibody response.
Ed.: CINADER, B., Thomas, Springfield, 54 (1967)
89. NEWCOMER, A.D.: Digestion and absorption of protein.
Mayo Clin. Proc. 48, 624 (1973)
90. NORN, S., and P. STAHLISKOV: Anaphylactic hyposensitization of rat mast cells in vitro by antigen.
Clin. exp. Immunol. 18, 431 (1974)
91. NOSSAL, G.J.V.: Immunological tolerance: a new model system for low zone induction.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 129, 822 (1966)
92. O'DALY, J.A., and J.J. CEBRA: Chemical and physiochemical studies of the component polypeptide chains of rabbit secretory immunoglobulin A.
Biochemistry 10, 3843 (1971)
93. OSLER, A.G., LEVY, D.A., and L.M. LICHTENSTEIN: In vitro studies of human reaginic allergy.
Adv. Immunol. 8, 183 (1968)

94. OUCHTERLONY, O.: Diffusion-in-gel methods for immunological analysis II. Progr. Allergy 6, 30 (1962)
95. POLAK, L., and H. GELEICK: Differing mechanisms of tolerance and desensitization to dinitro-chlorobenzene in guinea pigs. Eur. J. Immunol. 5, 94 (1975)
96. RATNER, B., and H.L. GRUEHL: Passage of native proteins through the normal gastrointestinal wall. J. clin. Invest. 13, 517 (1934)
97. RING, J., ENDERS, B., SEILER, F., SEIFERT, J., STEININGER, J., and W. BRENDL: Use of an indirect microhem-agglutination test with stable sensitized red cells in the detection of hors protein allergy. Int. Arch. Allergy appl Immun. 50, 103 (1976)
98. ROTHBERG, R.M., KRAFT, S.C., FARR, R.S., KRIEBEL, C.W., and S.S. GOLDBERG: Local immunologic response to ingested protein. In: The secretory immunologic system. Ed.: DAYTON, D.H., Nat. Inst. Child Health and Human Dev., Bethesda, 293 (1969)
99. SEIFERT, J., RING, J., and W. BRENDL: The absorption of ALG from the gut and its lymphocytopenic effect in dogs. Europ. Surg. Res. 6, Suppl. 1, 44 (1974)

100. SEIFERT, J.: Enterale Resorption großmolekularer Proteine bei Tieren und Menschen.
Z. Ernährungswiss. Suppl. 18,
1.(1976)
101. SEIFERT, J., Influence of the immune response
RING, J., on the absorption of protein
STEININGER, J., and antigens from the gut.
W. BRENDDEL: Nutr. Metabol. 20, 195 (1976)
102. SEIFERT, J., Oral antigen application.
RING, J., Eur. Surg. Res. 8, 254 (1976)
STEININGER, J., and
W. BRENDDEL:
103. SHEARMAN, J.C., The demonstration and function
PARKIN, M., and of antibodies in the gastro-
B.L. MCCLELLAND: intestinal tract.
Gut 13, 483 (1972)
104. SINCLAIR, N.R., and Relationship between antibody-
P.L. CHAN: mediated immunosuppression
and tolerance induction.
Nature (London) 234, 104 (1971)
105. SMITH, R.T., Studies of induction of immuno-
EITZMAN, D.V., logical tolerance to proteins
ROBBINS, J., and in the newborn mammal.
J. BELLANTI: In: Mechanisms of immunological
tolerance.
Ed.: HAŠEK, M., LENGEROVÁ, A.,
and M. VOJTÍŠKOVÁ,
Acad. Press, New York, 128 (1962)

106. SMITH, V.R.,
REED, R.E., and
E.S. ERWIN: Relation of physiological age
to intestinal permeability in
the bovine.
J. Diety Sci. 47, 923 (1964)
107. SOUTH, M.A.,
COOPER, M.D.,
WOLLHEIM, F.A.,
HONG, R., and
R.A. GOOD: The IgA system.
1. Studies of the transport
and immunochemistry of IgA in
the saliva.
J. exp. Med. 123, 615 (1966)
108. ŠTEFANOVIČ, J.,
KOTULOVÁ, D.,
BERGENDI, L., and
I. HAZULÁKOVÁ: The passive anaphylactic reaction
in guinea pigs elicited by the
whole and Cathepsin D-degraded
antigen.
Fol. Microbiol. 19, 71 (1974)
109. ŠTERZL, J.: Immunological tolerance as the
result of terminal differenti-
ation of immunologically
competent cells.
Nature (London) 209, 416 (1966)
110. STICKL, H.,
HÜLLSTRUNG, H.W., and
W. GILLESBERGER: Über eine immunbiologische
Behandlung der Akne vulgaris.
Münchn. Med. Wschr. 116,
2141 (1974)
111. STRANNEGÅRD, Ö., and
A. YURCHISON: Formation of agglutinating and
reaginic antibodies in rabbits
following oral administration
of soluble and particulate.
antigens.
Int. Arch. Allergy 35, 579
(1969)

112. SWINEFORD, O.: Non-specific passive desensitization: a brief review.
Ann. Allergy 30, 464 (1972)
113. THOMAS, H.C., and D.M.V. PARROT: The induction of tolerance to a soluble protein antigen by oral administration.
Immunology 27, 631 (1974)
114. THOMAS, H.C., MCSWEEN, R.N., and R.G. WHITE: Role of the liver in controlling the immunogenicity of commensal bacteria in the gut.
Lancet I, 1288 (1973)
115. THOMPSON, R.A., ASQUITH, P., and W.T. COOKE: Secretory IgA in the serum.
Lancet II, 517 (1969)
116. TOMASI, T.B.: Secretory immunoglobulins.
New Engl. J. Med. 281, 500 (1972)
117. TOMASI, T.B., TAN, E.M., SOLOMON, A., and R.A. PRENDERGAST: Characteristics of an immune system common to external secretions.
J. exp. Med. 121, 101 (1965)
118. TOMASI, T.B., and S. ZIEGELBAUM: The selective occurrence of gamma-A globulins in certain body fluids.
J. clin. Invest. 42, 1552 (1963)
119. UHR, J.W., and G. MÜLLER: Regulatory effect of antibody on the immune response.
Adv. Immunol. 8, 81 (1968)
120. VOIT, C., und E. BAUER: Über die Aufsaugung im Dick- und Dünndarm.
Z. Biol. 5, 536 (1869)

121. VOLKHEIMER, G., Persorption of particles.
SCHULZ, F.H., and Digestion 1, 78 (1968)
I. AURICH:
122. VOLKHEIMER, G., Persorption of metallic iron
SCHULZ, F.H., particles.
LINDENAU, A., and Gut 10, 32 (1969)
U. BEITZ:
123. WALKER, W.A.: Immunological mechanisms con-
trolling macromolecular pene-
tration in the small intestine.
Microbiology, 158 (1975)
124. WALKER, W.A.: Host defense mechanisms in the
gastrointestinal tract.
Pediatrics 57, 901 (1976)
125. WALKER, W.A., Intestinal uptake of macromole-
BLOCH, K.J., and cules: effect of oral immuni-
K.J. ISSELBACHER: zation.
Science 177, 608 (1972)
126. WALKER, W.A., Intestinal uptake of macromole-
BLOCH, K.J., and cules.
K.J. ISSELBACHER: II. Effect of parenteral immuni-
zation.
J. Immunol. 111, 221 (1973)
127. WALKER, W.A., Intestinal uptake of macromole-
WU, M., cules:
BLOCH, K.J., and III. Studies on the mechanism
K.J. ISSELBACHER: by which immunization inter-
feres with antigen uptake.
J. Immunol. 115, 854 (1975)

128. WALKER, W.A., Intestinal uptake of macromolecules.
WU, M.,
BLOCH, K.J., and IV. The effect of pancreatic duct
K.J. ISSELBACHER: ligation on the breakdown of
antigen and antigen-antibody
complexes on the intestinal
surface.
Gastroenterology 69, 1223 (1975)
129. WALZER, M.: Studies in absorption of undigested proteins in human beings.
J. Immunol. 14, 143 (1927)
130. WATSON, D.W.: Immune response and the gut.
Gastroenterology 56, 944 (1969)
131. WEIGLE, W.O., Tolerance: central unresponsiveness or peripheral inhibition.
CHILLER, J.M., and Progr. Immunol. II, Vol. 3,
J.A. LOUIS: 187 (1974)
132. WHITE, R.G.: Factors affecting the antibody response.
Brit. med. Bull. 19, 207 (1963)
133. WILSON, I.D., and Two distinct groups of immunoglobulin A (IgA) revealed by
R.C. WILLIAMS: peptic digestion.
J. clin. Invest. 48, 2409 (1969)
134. WISEMAN, G.: Absorption of amino acids.
In: Handbook of Physiology, Sec. 6,
Vol. 3, 1277
Ed.: CODE, C.F., Am. Physiol. Ser.,
Wash. D.C. (1968)

135. WOODRUFF, M.F.A.: Spezifische immunologische
Toleranz.
Klin. Wschr. 6, 245 (1958)
136. WORTHINGTON, B.S., Intestinal absorption of intact
BOATMAN, E.S., and proteins in normal and protein-
G.E. KENNY: deficient rats.
Am. J. clin. Nutr. 27, 276 (1974]
137. WORTMANN, F.: Perorale Desensibilisierung
bei Kindern.
Allergie und Asthma 11, 118 (1965
138. WÜTHRICH, B., und Desensibilisierungsergebnisse
H. STORCK: bei Pollenallergikern mit All-
pyral und mit wässerigen Extrak-
ten.
Schweiz. med. Wschr. 98, 653 (1968

LEBENS LAUF

Geburtstag: 4. März 1943

Geburtsort: Ungarsteig, Landkreis Passau

Eltern: Johann Steininger, Landwirt in Ungarsteig
Anna Steininger, geb. Stockbauer

Ehefrau: Gabriele Steininger, geb. Mors (seit
19. Mai 1972)

Kind: Benjamin, geb. 17. September 1974

Ausbildung: 1949 - 1953 Volksschule in Breitenberg
1953 - 1962 Humanistisches Gymnasium
in Passau
Juli 1962 Abitur
1962 - 1963 Studium der Philosophie an
der Phil.-Theol. Hochschule
in Passau
1963 - 1970 Studium der Philosophie und
Theologie an der Pontificia
Universitas Gregoriana in Rom
Juni 1966 Lizentiat der Philosophie
Juni 1970 Lizentiat der Theologie
April 1971 Beginn des Medizinstudiums
an der Universität München
April 1973 Ärztliche Vorprüfung
Sept. 1976 Staatsexamen der Medizin an
der Universität München
Okt. 1976 Medizinalassistent am Patho-
logischen Institut der Stadt
Augsburg

